

SÉRIE A, N° 708

N° D'ORDRE

1469

# THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

**M<sup>me</sup> M. POZERSKA**

LICENCIÉE ÈS SCIENCES NATURELLES

---

**1<sup>re</sup> THÈSE.** — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'IMMUNITÉ CONTRE L'ACTION  
ANTICOAGULANTE DE LA PEPTONE.

**2<sup>e</sup> THÈSE.** — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

---

Soutenues le *27* Juin 1912 devant la Commission d'Examen.

---

|                     |                      |
|---------------------|----------------------|
| MM. DASTRE. . . . . | <i>Président.</i>    |
| MATRUCHOT . . . . . | } <i>Examineurs.</i> |
| GENTIL. . . . .     |                      |

---

PARIS

IMPRIMERIE DE LA COUR D'APPEL

L. MARETHEUX, Directeur

1, RUE CASSETTE, 1

—  
1912







Digitized by the Internet Archive  
in 2026

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE  
DE  
L'IMMUNITÉ  
CONTRE L'ACTION ANTICOAGULANTE  
DE LA PEPTONE

# FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

*Doyen* . . . . . P. APPELL, *Profess.* Mécanique rationnelle.

*Doyen honoraire* . . . G. DARBOUX, — Géométrie supérieure.

*Professeurs honoraires.* { CH. WOLF.  
J. RIBAN.

|                                        |                                    |                                              |
|----------------------------------------|------------------------------------|----------------------------------------------|
|                                        | LIPPMANN . . . . .                 | Physique.                                    |
|                                        | BOUTY . . . . .                    | Physique.                                    |
|                                        | BOUSSINESQ. . . . .                | Physique mathém. et calcul des probabilités. |
|                                        | PICARD. . . . .                    | Analyse supérieure et algèbre supérieure.    |
|                                        | H. POINCARÉ. . . . .               | Astronomie mathém. et mécanique céleste.     |
|                                        | Y. DELAGE. . . . .                 | Zoologie, anatomie, physiologie comparée.    |
|                                        | GASTON BONNIER. . . . .            | Botanique.                                   |
|                                        | DASTRE . . . . .                   | Physiologie.                                 |
|                                        | KOENIGS. . . . .                   | Mécanique physique et expérimentale.         |
|                                        | VÉLAIN. . . . .                    | Géographie physique.                         |
|                                        | GOURSAT. . . . .                   | Calcul différentiel et calcul intégral.      |
|                                        | CHATIN. . . . .                    | Histologie.                                  |
|                                        | HALLER . . . . .                   | Chimie organique.                            |
|                                        | JOANNIS . . . . .                  | Chimie (Enseignement P. C. N.).              |
|                                        | JANET . . . . .                    | Physique. —                                  |
|                                        | WALLERANT. . . . .                 | Minéralogie.                                 |
| <i>Professeurs.</i> . . . . .          | ANDOYER . . . . .                  | Astronomie physique.                         |
|                                        | PAINLEVÉ . . . . .                 | Mathématiques générales.                     |
|                                        | HAUG. . . . .                      | Géologie.                                    |
|                                        | HOUSSAY. . . . .                   | Zoologie.                                    |
|                                        | H. LE CHATELIER. . . . .           | Chimie.                                      |
|                                        | GABRIEL BERTRAND. . . . .          | Chimie biologique.                           |
|                                        | M <sup>me</sup> P. CURIE . . . . . | Physique générale.                           |
|                                        | CAULLERY . . . . .                 | Zoologie (Evolution des êtres organisés).    |
|                                        | C. CHABRIÉ . . . . .               | Chimie appliquée.                            |
|                                        | G. URBAIN . . . . .                | Chimie.                                      |
|                                        | ÉMILE BOREL. . . . .               | Théorie des fonctions.                       |
|                                        | MARCHIS. . . . .                   | Aviation.                                    |
|                                        | JEAN PERRIN . . . . .              | Chimie physique.                             |
|                                        | G. PRUVOT. . . . .                 | Zoologie, anatomie, physiologie comparée.    |
|                                        | MATRUCHOT . . . . .                | Botanique.                                   |
|                                        | ABRAHAM. . . . .                   | Physique.                                    |
|                                        | N. . . . .                         | Application de l'analyse à la géométrie.     |
|                                        | N. . . . .                         | Calcul différentiel et calcul intégral.      |
|                                        | PUISEUX . . . . .                  | Mécanique et astronomie.                     |
|                                        | LEDUC . . . . .                    | Physique.                                    |
|                                        | MICHEL . . . . .                   | Minéralogie.                                 |
|                                        | HÉROUARD. . . . .                  | Zoologie.                                    |
|                                        | LÉON BERTRAND. . . . .             | Géologie.                                    |
| <i>Professeurs adjoints.</i> . . . . . | RÉMY PERRIER. . . . .              | Zoologie (Enseignement P. C. N.).            |
|                                        | MOLLIARD. . . . .                  | Physiologie végétale.                        |
|                                        | COTTON. . . . .                    | Physique.                                    |
|                                        | LESPIEAU. . . . .                  | Chimie.                                      |
|                                        | GENTIL. . . . .                    | Pétrographie.                                |
|                                        | SAGNAC. . . . .                    | Physique (Enseignement P. C. N.).            |
|                                        | PEREZ . . . . .                    | Zoologie (Evolution des êtres organisés).    |

*Secrétaire* . . . . . D. TOMBECK.

SÉRIE A, N° 708

N° D'ORDRE

1469

# THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

**M<sup>me</sup> M. POZERSKA**

LICENCIÉE ÈS SCIENCES NATURELLES

---

**1<sup>re</sup> THÈSE.** — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'IMMUNITÉ CONTRE L'ACTION  
ANTICOAGULANTE DE LA PEPTONE.

**2<sup>e</sup> THÈSE.** — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

---

Soutenues le *11* Juin 1912 devant la Commission d'Examen.



---

MM. DASTRE. . . . . *Président.*  
MATRUCHOT . . . } *Examineurs.*  
GENTIL. . . . . }

PARIS

IMPRIMERIE DE LA COUR D'APPEL

L. MARETHEUX, Directeur

1, RUE CASSETTE, 1

—  
1912



## INTRODUCTION

La conception de l'immunité peptonique est aussi ancienne que celle de l'action anticoagulante exercée par la peptone dans l'organisme du chien. Schmidt-Mulheim avait vu qu'une première injection intraveineuse de peptone faite à un chien rend incoagulable le sang de cet animal. Une seconde injection faite quelques heures plus tard, au moment où le sang a repris sa coagulabilité normale, n'exerce plus aucune action. La première injection de peptone paraissait donc immuniser contre les effets nocifs des injections ultérieures.

Depuis lors, de nombreux travaux furent entrepris au sujet de cette immunité. La plupart d'entre eux datent de l'époque où les notions que l'on possédait sur le mécanisme de l'immunité humorale n'étaient basées encore sur aucun fait précis.

Les travaux de Bordet sur l'hémolyse, la découverte des anticorps dans le sérum des animaux immunisés, ont orienté l'étude de l'immunité générale dans une direction bien déterminée.

La question de l'immunité propeptonique devait donc être reprise au jour de ces données nouvelles. Aussi, nous basant sur les faits précis établis par les bactériologistes, nous avons cherché à voir si l'immunité contre la peptone pouvait être rangée dans le cadre des phénomènes connus d'immunité ou si elle constituait un état passager de défense de l'organisme, régi par des lois tout autres que celles de l'immunité générale.

L'exposé des recherches entreprises dans ce but fera le sujet de ce travail.

# PREMIÈRE PARTIE

## GÉNÉRALITÉS ET HISTORIQUE

---

### CHAPITRE PREMIER

#### APERÇU SUCCINCT

#### SUR LE MÉCANISME DE L'ACTION ANTICOAGULANTE DE LA PEPTONE

L'exposé de la question de l'incoagulabilité du sang provoquée chez le chien par une injection intraveineuse de peptone n'entre nullement dans le cadre de notre étude. Néanmoins, il est indispensable d'indiquer en quelques mots les grandes étapes de la question, pour rappeler que l'incoagulabilité du sang n'est pas provoquée directement par la peptone elle-même, mais par une substance élaborée par l'organisme du chien sous l'influence de la peptone.

Schmidt-Mulheim (1), puis Albertoni (2) furent les premiers auteurs qui montrèrent, indépendamment l'un de l'autre, que la peptone injectée dans les veines d'un chien provoque chez cet animal l'incoagulabilité du sang et de la lymphe.

Pollitzer (3), puis Grosjean (4) montrent que cette action de

(1) SCHMIDT-MULHEIM, *Arch. f. Physiol.*, 1880. — *Centr. f. d. med. Wiss.*, 1880, n° 27.

(2) ALBERTONI, *La Salute, Italia medica*, mai 1880. — *Ueber die Peptone. Centr. f. d. med. Wiss.*, 1880, n° 32.

(3) POLLITZER, *Zeitschr. f. Biol.*, 1885. — *Journ. of Physiol.*, 1886.

(4) GROSJEAN, *Mém. de l'Acad. royale de Belg.*, avril 1892.

la peptone est due surtout aux albumoses qui accompagnent la peptone.

Schmidt-Mulheim suppose que la peptone n'agit pas par sa simple présence, mais qu'elle se transforme dans l'organisme en une substance qui empêche la formation du fibrin-ferment.

En admettant ce fait, on comprenait : 1° pourquoi la peptone n'empêche pas, *in vitro*, la coagulation du sang, et 2° pourquoi l'incoagulabilité du sang persiste, *in vivo*, malgré la disparition de la peptone du sang, disparition constatée par Hofmeister (1), Neumeister (2), Shore (3), Starling (4).

Plus tard, Fano (5), reprenant les travaux de Schmidt-Mulheim, voit que la peptone ne se transforme pas du tout, mais qu'elle provoque la formation d'une substance nouvelle, qui empêche la coagulation.

Contejean (6) montra que les tissus de l'organisme jouent un rôle important dans l'élaboration de la substance anticoagulante et attribue un rôle prépondérant au foie et à l'intestin.

Gley et Pachon (7) donnent plus d'importance au foie qu'à l'intestin et montrent que la substance anticoagulante ne se forme plus après l'extraction du foie.

Hédon et Delezenne (8) attribuent au foie le rôle principal.

Delezenne (9), en employant la méthode des circulations artificielles, établit le fait d'une façon tout à fait incontestable. Il démontre que le foie, isolé de l'organisme, peut former en présence de protéoses une substance anticoagulante.

Ainsi donc, l'injection de peptone dans les veines d'un chien provoque, dans le foie de cet animal, la formation d'une substance qui s'oppose à la coagulation du sang.

(1) HOFMEISTER, *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, V, 1881, p. 127.

(2) NEUMEISTER, *Zeitschr. f. Physiol.*, VI, 1888, p. 283, et IX, 1890, p. 318.

(3) SHORE, *Journ. of Physiol.*, XI, 1890, p. 361.

(4) STARLING, *Centralbl. f. Physiol.*, VI, 1892, p. 395.

(5) FANO, *Arch. f. Physiol.*, 1881. — *Arch. per le Sc. med.*, 1882. — *Arch. ital. de Biol.*, 1882.

(6) CONTEJEAN, *Arch. de Physiol.*, 1895.

(7) GLEY et PACHON, *Arch. de Physiol.*, 1895. — *Acad. des Sciences*, 1895.

(8) HÉDON et DELEZENNE, *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 20 juin 1896.

(9) DELEZENNE, *Arch. de Phys.*, 1896, p. 655.

Ce qui provoque l'incoagulabilité n'est donc pas la peptone, mais une substance élaborée par le foie.

La peptone ne paraît pas entrer dans la constitution de cette substance, puisque, d'après les recherches récentes de Doyon, Morel et Policard (1), on peut obtenir le poison anticoagulant en faisant circuler dans le foie d'un chien, non plus une solution de peptone, mais tout simplement une solution faiblement alcaline. Pour obtenir ce résultat, il faut, à plusieurs reprises, faire congeler et décongeler le foie. La peptone agirait donc en provoquant l'excrétion du poison élaboré par le foie.

Une seconde injection de peptone, faite à un chien chez lequel la coagulabilité du sang est redevenue à peu près normale, se montre tout à fait inactive.

Les auteurs qui se sont occupés de cette inactivité de la seconde injection, ont appelé ce phénomène *Immunité peptonique*. Au moment de leurs études, ils n'étaient pas en possession de toutes les données expérimentales et théoriques que nous avons aujourd'hui depuis les travaux de Bordet.

L'étude de l'immunité générale, qui était pendant de longues années détournée des théories humorales, entra dans une voie toute nouvelle depuis le jour où Bordet montra que les organismes peuvent lutter contre les éléments étrangers figurés ou non figurés qui l'envahissent, par l'élaboration de substances spécifiques appelées *anticorps*, que l'on peut facilement déceler dans les humeurs de ces organismes.

L'étude de l'immunité contre la peptone devait donc être reprise avec ces données nouvelles. C'est ce que nous avons fait dans ce travail.

Pour la compréhension de nos expériences, il est indispensable de résumer en quelques pages les faits sur lesquels sont basées nos connaissances actuelles relatives à l'immunité.

Nous n'exposerons pas ici toutes les théories qui ont passionné pendant ces quinze dernières années le monde biologique au sujet de la formation des anticorps et du mécanisme de leur action. Nous nous contenterons simplement de montrer

(1) M. DOYON, A. MOREL et A. POLICARD. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1911, t. LXX, p. 115, 175, 232 et 341.

les faits expérimentaux indéniables qui ont servi de bases à ces théories, faits que chacun peut répéter par des expériences de laboratoire et qui sont entrés dans le domaine des vérités absolues de la physiologie moderne.

## CHAPITRE II

### CONCEPTION ACTUELLE DE L'IMMUNITÉ HUMORALE

#### PHÉNOMÈNE DE L'HÉMOLYSE.

Si, dans une émulsion de globules rouges de mouton débarrassés du sérum par plusieurs centrifugations et lavages successifs, on laisse tomber quelques gouttes de sérum de lapin, on ne voit après quelques heures aucun phénomène remarquable. Les globules rouges se sédimentent petit à petit et ne tardent pas à tomber dans le fond du tube, tandis que le liquide qui surnage reste clair et parfaitement incolore.

Si, au lieu d'employer le sérum d'un lapin quelconque, on prend le sérum d'un lapin ayant reçu plusieurs injections intrapéritonéales de globules de mouton, on assiste à un tout autre tableau. Les globules, au lieu de se sédimenter, disparaissent peu à peu; ils subissent une sorte de fonte, et le liquide, au lieu de rester opaque comme au début de l'expérience, devient tout à fait transparent, tout en présentant une belle couleur rouge, caractéristique de l'hémoglobine.

Ainsi donc, le fait d'injecter préalablement un lapin avec des globules de mouton, a provoqué l'apparition, dans le sérum de ce lapin, d'une propriété hémolytique pour les globules de mouton.

Ce sérum peut alors dissoudre les globules de mouton, et seulement les globules de mouton.

Le mécanisme de cette action hémolytique est assez compliqué. Nous allons entrer ici dans son détail.

Chauffons à 56 degrés, pendant une demi-heure, dans un bain-marie, le sérum de lapin devenu artificiellement hémolytique pour le mouton et portons-en quelques gouttes dans un centimètre cube d'émulsion de globules rouges de ce dernier animal. Nous constatons qu'il a perdu tout pouvoir hémolytique.

Cette destruction n'est cependant que partielle. En effet, si à ce sérum, chauffé à 56 degrés et non hémolytique, on ajoute quelques gouttes de sérum neuf (qui, lui non plus, n'est pas hémolytique), on réactive le pouvoir hémolytique du sérum préparé, qui avait été masqué par le chauffage à 56 degrés.

Après de minutieuses études, Bordet parvint à expliquer comme il suit ce phénomène si complexe.

Le sérum de lapin préparé contre les globules de mouton contient une substance hémolysante pour les globules de mouton : une *hémolysine*.

Cette hémolysine se compose elle-même de deux substances :

1° Une substance préexistant dans le sérum normal de l'animal neuf, appelée *alexine*.

2° Une substance apparaissant au cours des injections répétées de globules de mouton et appelée *sensibilisatrice*.

L'alexine ne supporte pas un chauffage à 56 degrés pendant une demi-heure.

La sensibilisatrice résiste à cette température et n'est détruite qu'après un chauffage d'une demi-heure à 65 degrés.

L'action simultanée de ces deux substances est nécessaire pour produire le phénomène de l'hémolysine. Si on détruit l'une d'elles, le phénomène n'a plus lieu. Si on rajoute au mélange inactivé la substance qu'on a détruite, la propriété hémolytique réapparaît.

On comprend ainsi ce qui s'est passé après le chauffage à 56 degrés. L'alexine a été détruite; la sensibilisatrice existait donc seule dans le mélange et ne pouvait provoquer l'hémolyse des globules de mouton.

En ajoutant à ce mélange inactif du sérum de lapin neuf, on a ajouté de l'alexine qui se trouve normalement dans tout sérum neuf. On a ainsi reconstitué le complexe hémolytique alexine-sensibilisatrice, et rendu l'hémolyse possible.

D'après Bordet, l'alexine contenue dans un sérum neuf ne

peut dissoudre les globules étrangers, parce qu'elle ne peut se fixer sur ces globules. Il lui manque un *mordant* lui permettant de se fixer; ce mordant est la sensibilisatrice qui naît au cours des injections de globules étrangers.

En d'autres termes, les globules de mouton ne peuvent être détruits par l'alexine que s'ils sont *sensibilisés* par la sensibilisatrice qui naît au cours des injections. Ainsi s'explique le nom donné par Bordet à cette dernière substance.

La théorie de Bordet est une théorie physique. D'après lui, l'alexine se fixe sur le globule, pour le détruire, grâce à une substance intermédiaire (la sensibilisatrice), absolument comme une couleur se fixe sur une étoffe, grâce à une substance intermédiaire (le mordant).

La sensibilisation des globules serait l'équivalent du mordantage des étoffes.

Ehrlich n'admet pas la théorie physique de Bordet. D'après l'auteur allemand, la sensibilisatrice qui naît au cours des injections serait une substance douée d'une double affinité chimique : une affinité pour l'alexine et une pour le globule.

La sensibilisatrice serait capable, grâce à ses deux affinités, de fixer l'alexine sur le globule; fixation qui auparavant était impossible, car ces deux derniers éléments ne possèdent, l'un pour l'autre, aucune affinité chimique.

Ces deux affinités chimiques de la sensibilisatrice furent figurées sous la forme de récepteurs par Ehrlich, qui pour cette raison donna à la sensibilisatrice le nom d'*ambocepteur*.

Pour provoquer l'hémolyse, il faut à l'ambocepteur une substance complémentaire qui est l'alexine; d'où le nom de *complément* donné à cette dernière substance par Ehrlich.

Le mot complément est donc le synonyme d'alexine; celui d'ambocepteur est synonyme de sensibilisatrice. Nous emploierons indistinctement ces diverses dénominations dans le courant de cet exposé.

Nous avons vu que le fait d'injecter des globules de mouton à un lapin fait naître, dans les humeurs de ce dernier, une sensibilisatrice. Cette sensibilisatrice réunie à l'alexine qui préexistait dans les humeurs du lapin constitue une hémolysine. Cette hémolysine est *spécifique* pour les globules de mouton, elle ne pourra jamais, *in vitro*, dissoudre les globules de bœuf,

par exemple. Au contraire, une hémolysine obtenue chez le lapin par injection de globules de bœuf, sera active sur les globules de bœuf seulement, et non sur les globules de mouton.

Mais dans ces deux hémolysines l'alexine est toujours la même. La sensibilisatrice seule est spécifique.

A chaque espèce globulaire injectée à un lapin correspond une sensibilisatrice toute spéciale, toute spécifique.

Une hémolysine de lapin pour le mouton chauffée à 56 degrés et privée par là même de son alexine, peut être réactivée non seulement par de l'alexine contenue dans le sérum d'un lapin neuf, mais encore par l'alexine contenue dans le sérum d'un cobaye neuf ou le sérum d'un animal neuf quelconque.

Ainsi donc : 1° une même alexine peut réactiver n'importe quelle hémolysine chauffée à 56 degrés; 2° une hémolysine chauffée à 56 degrés peut être réactivée par l'alexine du sérum de n'importe quel mammifère.

La sensibilisatrice est donc une substance toute spécifique; l'alexine, au contraire, est une substance universelle.

L'organisme du lapin qui a été injecté avec des globules de mouton, se trouve en état de détruire ces globules, nuisibles pour lui comme toute substance étrangère injectée. Il a acquis cette propriété destructive au cours des injections.

Puisqu'il peut lutter contre cet élément étranger, on peut dire qu'il s'est *immunisé* contre lui.

Or, ce qui caractérise cet état de défense ou d'*immunité* de l'organisme du lapin, c'est la présence dans ses humeurs de la sensibilisatrice, qui est née au cours des injections, c'est-à-dire au cours de l'immunisation.

La sensibilisatrice est donc la substance noble de l'immunité.

Cet état d'immunité créé chez le lapin contre les globules de mouton, est tout à fait *artificiel*. L'hémolysine est née pendant le courant des injections de globules de mouton. Il existe cependant de véritables *immunités naturelles* chez certains animaux contre certains globules. Ainsi le sérum du chien possède un pouvoir hémolytique très prononcé pour les globules de nombreuses espèces animales : mouton, bœuf, etc.

Le sérum du chien contient une véritable hémolysine naturelle. Cette hémolysine agit aussi par l'action simultanée de deux substances : une alexine et une sensibilisatrice. Elle perd

aussi son pouvoir par le chauffage à 56 degrés; mais, tandis que les hémolysines artificielles chauffées à 56 degrés sont très facilement réactivables par une alexine quelconque, les hémolysines naturelles sont, au contraire, très difficilement réactivables par les alexines étrangères.

#### PHÉNOMÈNE DE L'HÉMOAGGLUTINATION.

Lorsqu'on chauffe à 56 degrés un sérum de lapin préparé contre les globules de mouton, il perd son alexine et l'hémolysine spécifique ne peut plus exercer son action dissolvante sur les globules de mouton.

Si l'on ajoute quelques gouttes de ce sérum chauffé à une émulsion de globules de mouton, on ne voit au début aucun phénomène particulier. Après quelques heures, on aperçoit au sein du liquide de petits grumeaux, de petits agglutinats de globules, qui finalement se sédimentent au fond du tube. Après une dizaine d'heures, le liquide qui surnage est transparent et parfaitement incolore.

Au premier abord, on ne voit aucune différence entre le contenu de ce tube et celui d'un autre tube dans lequel on a mélangé les mêmes quantités d'émulsion globulaire et de sérum-lapin normal, non préparé. Dans les deux récipients, on constate un petit culot de globules tassés à la partie inférieure d'un liquide tout à fait incolore.

Mais si l'on vient à agiter les deux tubes, on voit que les globules contenus dans la dilution de sérum neuf se remettent très facilement en suspension; au contraire, les globules contenus dans la dilution de sérum préparé chauffé à 56 degrés sont complètement agglutinés en un gros culot tout à fait homogène. Si on agite violemment ce dernier tube, la masse unique de globules se divise en quelques gros fragments et, malgré une très forte agitation, il est presque impossible de remettre les globules en suspension dans le liquide.

Ainsi donc, pendant le courant de l'immunisation, on fait apparaître dans les humeurs de l'organisme non seulement une hémolysine, mais encore une substance qui agglutine les globules : une *hémogglutinine*.

Au point de vue fonctionnel, cette hémagglutinine présente une différence capitale avec l'hémolysine. En effet, l'hémolysine ne peut plus agir après chauffage à 56 degrés, c'est-à-dire après avoir perdu son alexine. L'hémagglutinine, au contraire, exerce son action après chauffage à 56 degrés, c'est-à-dire sans alexine.

Cette hémagglutinine est aussi spécifique que l'hémolysine ; en effet, le sérum d'un lapin injecté avec des globules de mouton agglutine seulement les globules de mouton, et non les globules de bœuf. Réciproquement, le sérum d'un lapin préparé contre les globules de bœuf agglutine seulement les globules de bœuf, et non ceux du mouton.

On vient donc de constater l'existence d'une hémagglutinine dans le sérum préparé et chauffé à 56 degrés. On n'avait pas constaté sa présence dans le sérum préparé et non chauffé.

Est-ce à dire que cette hémagglutinine n'existait pas dans le sérum chauffé ? Non, dans le sérum préparé non chauffé l'hémagglutinine et l'hémolysine exercent toutes deux leur action sur les globules. Mais il y a une lutte de vitesse entre ces deux substances : l'hémolysine détruit les globules à mesure que l'agglutinine les agglutine partiellement. Si l'hémolysine exerce son action avec une plus grande vitesse que l'hémagglutinine, il est impossible de saisir le stade de l'agglutination.

Si le lapin est préparé par un petit nombre d'injections de globules de mouton, ses humeurs contiennent peu d'hémolysine et relativement beaucoup d'agglutinine. En faisant agir le sérum de cet animal sur une émulsion de globules de mouton, on aperçoit d'abord l'agglutination, puis tardivement seulement l'hémolyse des globules agglutinés.

On comprend aisément pourquoi, dans un sérum hémolytique chauffé à 56 degrés, on aperçoit si facilement le phénomène de l'agglutination. En effet, la lutte de vitesse dont on a parlé plus haut se fait entre deux facteurs dont l'un — l'hémolyse — est nul, puisque l'alexine indispensable pour l'hémolyse a été détruite par le chauffage.

L'hémagglutinine, qui exerce son action sans le secours de l'alexine, a donc tout le temps de manifester son activité.

En résumé, le fait d'injecter plusieurs fois un lapin avec des

globules de mouton fait naître dans les humeurs de cet animal deux propriétés nouvelles : la propriété *lytique* et la propriété *agglutinante*. La propriété lytique est due à l'existence d'une hémolysine, composée elle-même de deux substances : l'une, *l'alexine* ou *complément*, qui préexistait dans les humeurs de l'animal neuf; l'autre, la *sensibilisatrice* ou *ambocepteur*, apparaissant au cours de la préparation de l'animal.

La propriété agglutinante est due à la naissance d'une *agglutinine*, constituée par une seule substance apparaissant au cours de la préparation de l'animal et qui peut exercer son action sans le secours de l'alexine.

La naissance de la lysine et de l'agglutinine dans les humeurs de l'animal caractérise son *immunisation* contre les globules étrangers. L'existence de ces deux substances dans le sérum du lapin caractérise l'état d'*immunité* de cet animal contre ces mêmes globules.

#### BACTÉRIOLYSINES ET BACTÉRIOAGGLUTININES.

Les données qui précèdent montrent bien le processus employé par l'organisme pour lutter contre les globules étrangers injectés expérimentalement. Les mêmes lois régissent l'immunisation contre les éléments étrangers autres que les globules rouges, les microbes, par exemple.

Lorsqu'on injecte des microbes à un animal, on voit apparaître dans les humeurs du sujet en expérience des substances qui provoquent soit la lyse, soit l'agglutination de ces microbes.

*Bactériolysines.* — Si l'on injecte à un cheval, pendant quelque temps, des émulsions de vibrions cholériques, on peut facilement mettre en évidence une bactériolysine dans le sérum de cet animal. En effet, mélangeons une émulsion de vibrions avec quelques gouttes de sérum de cheval préparé et injectons le mélange dans le péritoine d'un cobaye. Après une demi-heure, prélevons à l'aide d'une pipette effilée quelques gouttes de l'exsudat péritonéal et observons-le au microscope. Les vibrions cholériques, qui une demi-heure auparavant se présentaient à l'œil avec leurs formes caractéristiques, sont trans-

formés maintenant en une fine poussière : ils sont *bactériolysés*. C'est le phénomène de Pfeiffer.

Le fait d'injecter un cheval avec du vibrion cholérique a donc fait naître dans les humeurs de cet animal une bactériolysine. Cette bactériolysine, tout comme une hémolysine, se compose de deux substances : une sensibilisatrice spécifique, née au cours de l'immunisation, et une alexine qui préexistait dans les humeurs de l'animal.

*Bactérioagglutinines*. — Lorsqu'on injecte à un cheval des bacilles d'Eberth ou bacilles typhiques, le sérum de cet animal présente, après un certain nombre d'injections, des propriétés agglutinantes tout à fait manifestes vis-à-vis du bacille d'Eberth, et seulement vis-à-vis de ce bacille. En effet, si on ajoute une goutte de sérum de cheval préparé à une émulsion de bacille typhique, on voit après quelques secondes l'émulsion opaque et homogène présenter de petites granulations, puis de petits grumeaux et finalement de gros flocons qui ne tardent pas à tomber au fond du tube. Au microscope, après coloration, on voit que les microbes sont agglutinés en de gros amas tout à fait caractéristiques.

Tout comme une hémagglutinine, cette bactérioagglutinine exerce son action après chauffage à 56 degrés. Elle n'a donc pas besoin de l'aide du complément pour manifester son activité.

## PRÉCIPITINES ET LYSINES

### CONTRE LES SUBSTANCES ALBUMINOÏDES NON FIGURÉES.

a) *Précipitines*. — Lorsqu'on injecte à un animal, à un lapin, par exemple, non plus des substances albuminoïdes ayant une forme organisée comme des globules sanguins ou des microbes, mais des substances albuminoïdes non figurées comme du sérum sanguin ou du blanc d'œuf, on obtient dans les deux cas des résultats assez comparables.

Injectons à un lapin à quatre ou cinq reprises différentes de petites quantités d'albumine d'œuf de poule. Le sérum de ce lapin donnera un voile opalescent quand il sera mélangé *in vitro* avec du blanc d'œuf de poule. Ce sérum ne donnera

aucun précipité, si on le mélange avec du blanc d'œuf de canard.

Le fait d'injecter un lapin avec une albumine étrangère a donc provoqué, dans l'organisme de cet animal, l'apparition de la propriété nouvelle de précipiter la micelle albuminoïde étrangère. Cette propriété est due à une *précipitine*.

Cette précipitine est tout à fait spécifique et elle manifeste son action même après chauffage du sérum à 56 degrés pendant une demi-heure ; elle n'a point besoin d'alexine pour exercer son action précipitante. Les précipitines sont donc pour les substances albuminoïdes non figurées ce qu sont les agglutinines pour les substances albuminoïdes figurées. Le même résultat ou du moins un résultat analogue sera obtenu, si, au lieu d'injecter au lapin du blanc d'œuf, on lui injecte du sérum sanguin d'une espèce étrangère ou toute autre substance albuminoïde provenant d'un organisme animal étranger ou d'un végétal quelconque.

b) *Albuminolysines*. — Lorsqu'on injecte à un animal des globules sanguins étrangers, on constate dans le sérum de celui-ci des propriétés agglutinantes et lytiques pour ces globules. Ces deux propriétés sont faciles à constater microscopiquement et même macroscopiquement.

Rien de plus simple, en effet, que d'apprécier l'agglutination ou la lyse d'un élément qui possède une forme bien nette comme un globule sanguin ou même un microbe. Au contraire, quand on injecte à un animal une substance albuminoïde non organisée, comme du sérum ou du blanc d'œuf, il est facile de constater le phénomène de la précipitation, mais il est impossible de vérifier la lyse ou fonte de la micelle albuminoïde, qui non seulement n'a pas de forme propre décelable, mais qui est invisible au microscope.

De prime abord, il semble donc impossible de constater la présence d'une albuminolysine dans le sérum d'un animal préparé par plusieurs injections d'une substance albuminoïde non organisée. On peut cependant tourner la difficulté en considérant le fait que les lysines ne peuvent se passer de complément pour exercer leur action et qu'elles épuisent, en quelque sorte, le complément qui se trouve en solution à côté d'elles.

On pourra donc constater l'existence d'une lysine, en constatant la disparition du complément dans une solution qui contient ces deux éléments. En employant cette méthode, sur laquelle nous reviendrons longuement en ses temps et lieu, on voit que l'injection d'une substance albuminoïde non figurée, à un animal, fait naître dans les humeurs de celui-ci une lysine aussi bien qu'une précipitine.

#### ANTICORPS ET ANTIGÈNES.

On a vu plus haut que l'injection à un animal d'une substance albuminoïde organisée ou d'une substance albuminoïde non organisée fait naître dans l'organisme de celui-ci des propriétés nouvelles agglutinantes ou lytiques. Ces propriétés sont dues à la présence dans les humeurs d'agglutinines, de précipitines ou de lysines. C'est là un des processus de défense de l'organisme contre l'envahissement par des substances albuminoïdes étrangères.

Les lysines sont composées de deux éléments : l'alexine, qui préexiste dans les humeurs, et la sensibilisatrice, qui naît au cours de l'immunisation.

Les précipitines et les agglutinines, qui agissent sans le secours du complément, naissent comme les sensibilisatrices au cours de la préparation de l'animal.

Ces trois substances nouvelles, précipitines, agglutinines et lysines, qui modifient *in vitro* les albuminoïdes ayant servi à injecter les animaux, sont de véritables substances antagonistes pour ces albuminoïdes. Ce sont, étymologiquement, des *anti* pour les *corps* injectés. Aussi leur a-t-on donné le nom global d'*anticorps*.

Les substances albuminoïdes que l'on a injectées et qui ont provoqué la naissance des anticorps, qui les ont en quelque sorte *engendrés*, ont reçu le nom global d'*antigènes*.

Ainsi donc : 1° toute substance albuminoïde injectée à un animal (globules, microbes, sérums, albumines étrangères, toxines) qui provoque chez cet animal la naissance d'anticorps, est un *antigène* ;

2° Toute substance, comme une précipitine, une agglutinine,

une lysine, qui naît dans les humeurs d'un animal au cours de son immunisation par un antigène quelconque, est un *anticorps*.

Ce qui caractérise l'état d'immunité contre un antigène, c'est la présence de l'anticorps. *Sans anticorps, il n'y a pas d'immunité.*

Est-ce à dire que chaque fois qu'on pourra mettre en évidence des anticorps dans le sérum d'un animal, celui-ci sera immunisé au sens ancien du mot, c'est-à-dire qu'il pourra recevoir impunément des doses mortelles ou seulement nuisibles de l'antigène contre lequel il a élaboré des anticorps ? Non, mais ce que nous pouvons avancer sans aucun doute, c'est que toutes les fois qu'un animal est immunisé, dans le sens ancien du mot que nous venons d'expliquer, contre un antigène bien défini, il présente *toujours* dans ses humeurs des anticorps spécifiques.

Voici pourquoi nous avons dit quelques lignes plus haut qu'il n'existe pas d'immunité sans la présence d'anticorps dans les humeurs, et voilà pourquoi nous nous sommes donné la tâche de déceler les anticorps dans l'immunité propeptonique.

a) *Genèse des anticorps dans un organisme en voie d'immunisation.* — Si on saigne un lapin cinq jours après une injection de globules rouges de mouton, on constate que le sérum de cet animal exerce une action agglutinante très légère sur les globules de mouton et ne possède encore aucune action hémolytique appréciable.

Après deux injections séparées l'une de l'autre par un espace de temps de cinq jours, le pouvoir agglutinant augmente et le pouvoir lytique commence à apparaître.

Après quatre injections, faites de cinq en cinq jours, on constate cinq jours après la dernière que le sérum de l'animal possède un très fort pouvoir hémolytique qui masque, par la rapidité de son action, le pouvoir agglutinant. Ce dernier existe cependant, et peut être mis facilement en évidence après le chauffage du sérum pendant une demi-heure à 56 degrés.

On voit donc qu'un *certain temps indispensable* est nécessaire à l'organisme pour que celui-ci puisse élaborer les anticorps spécifiques qui caractérisent l'immunité.

Ce fait que nous venons d'établir pour l'immunisation contre les globules est général dans l'immunisation contre tous les

antigènes. On sait, en effet, que les chevaux que l'on injecte dans le but d'obtenir de l'antitoxine diphtérique s'immunisent lentement et que l'on ne peut par aucun moyen déceler un état d'immunité pendant les premiers jours qui suivent la première injection.

*Une des caractéristiques de l'immunité est donc le temps latent relativement long de l'immunisation.*

#### IMMUNITÉ ACTIVE ET IMMUNITÉ PASSIVE.

L'apparition des anticorps pendant le cours des injections d'un antigène constitue le travail de l'immunisation. L'organisme travaille d'une façon *active* pour élaborer ses anticorps ; aussi l'immunité qui résulte de cette immunisation a-t-elle reçu la dénomination d'*immunité active*.

Les anticorps élaborés par l'organisme pendant cette immunisation active peuvent être mis en évidence *in vitro* dans le sérum de l'animal immunisé. Ce sérum contient donc des anticorps et, comme ceux-ci sont capables de neutraliser l'antigène correspondant, il paraît évident que si on injecte ce sérum contenant des anticorps à un animal neuf, on provoque chez celui-ci une immunité passagère ; celle-ci lui permet de lutter contre l'antigène correspondant, tant que les anticorps qu'on lui a injectés ne sont pas encore éliminés de son organisme.

Cet état passager d'immunité qu'on a conféré à l'animal neuf en lui injectant des anticorps fabriqués par un animal étranger a reçu le nom d'*immunité passive*.

Le meilleur exemple de cette immunité passive s'observe avec la toxine diphtérique. On sait, en effet, que le sérum d'un cheval qui a reçu pendant un certain temps des injections répétées de toxine diphtérique, plus ou moins atténuées, contient assez d'unités antitoxiques pour neutraliser, chez un autre sujet, les toxines sécrétées par les bacilles de la diphtérie pendant le cours de la maladie.

## CHAPITRE III

### HISTORIQUE DE L'IMMUNITÉ PROPEPTONIQUE

On a vu dans le chapitre précédent quels sont les faits qui caractérisent l'immunité générale. On peut dire que l'état d'immunité est toujours accompagné par la présence d'anticorps et que ceux-ci exigent toujours un certain temps latent pour être élaborés par un organisme en voie d'immunisation.

Avant d'appliquer ces données à l'étude de l'immunité contre la peptone, nous allons passer en revue les idées des auteurs qui se sont occupés de la question.

Schmidt-Mulheim (1), après avoir constaté qu'une injection intraveineuse de peptone faite au chien déterminait l'incoagulabilité du sang, remarqua le fait de l'immunité peptonique. Il vit que, lorsque la coagulation était redevenue normale quelque temps après une première injection de peptone, elle n'était plus influencée par une nouvelle injection.

Voici la seule expérience publiée par cet auteur.

On injecte 3 gr. de peptone, en solution dans 15 cent. cubes d'eau salée, dans la jugulaire d'un chien pesant 23 kil. On fait plusieurs prises de sang; celui-ci reste incoagulable jusqu'au lendemain matin. Une heure après cette injection, le pouvoir coagulant de ce sang est redevenu à peu près ce qu'il était auparavant.

(1) SCHMIDT-MULHEIM, *Arch. de Du Bois-Reymond*, 1880, p. 50. — *Arch. f. Physiol.*, 1880, p. 33.

5 grammes de peptone sont injectés alors à l'animal pendant un espace de temps de six minutes. Le sang pris quelques minutes après cette injection présente en dix minutes un caillot bien organisé.

Fano (1), après avoir constaté qu'une injection intraveineuse de peptone faite à un chien rend son sang incoagulable, voit que : « le sang en circulation reprend cinq heures après, environ, la propriété de se coaguler quelques minutes après l'extraction. Ce n'est que vingt-quatre heures après qu'il serait en état de sentir de nouveau l'action d'une deuxième injection de peptone en perdant la propriété de se coaguler spontanément.

« Une seconde injection faite dans ce cas beaucoup avant que les vingt-quatre heures soient passées n'empêche pas la coagulabilité, et cependant la peptone disparaît presque complètement ».

Grosjean (2) voit que : « lorsque la coagulation est revenue après une seconde injection, de nouvelles injections même plus fortes que la première n'ont plus d'action sur la coagulabilité, si elles sont faites peu de temps après le retour de celle-ci. Cette immunité persiste encore partiellement au moins vingt-quatre heures après le retour de la coagulabilité. Quand la coagulabilité reparait après une première injection et qu'elle persiste en vertu de l'immunité acquise, elle n'est pas seulement à la normale constatée avant l'injection, elle l'a dépassée : le sang est devenu plus coagulable ».

Contejean (3) le premier cherche à rapprocher les faits décrits par Schmidt-Mulheim et Grosjean des conceptions de l'immunité qui régnaient de son temps. A ce moment, les biologistes étaient sous l'impression des mémorables expériences de Behring et de Roux sur l'immunisation antidiphtérique. On savait que le sérum d'un cheval préparé par des injections de toxine diphtérique pouvait neutraliser les poisons sécrétés par le bacille de Loeffler dans un organisme malade.

Contejean résume son idée directrice dans la phrase suivante :

(1) FANO, *Arch. de Du Bois-Reymond*, 1881, p. 277. — *Arch. ital. de Biolog.*, 1882.

(2) GROSJEAN, *Trav. du Lab. de Physiol. de l'Université de Liège*, t. IV, 1892. — *Mém. de l'Acad. roy. de Belgique*, avril 1892.

(3) CONTEJEAN, *Arch. de Physiol.*, 1895, p. 4.

« Dans l'expérience de Schmidt-Mulheim, le produit empêchant la coagulation du sang, produit qui provient de la transformation de la peptone dans un organe, ou qui est sécrété par l'organisme lui-même sous l'influence de cette dernière, ce que nous ne savons pas au juste, a probablement déterminé de la part de l'organisme affecté une réaction dont l'effet a été la sécrétion d'une substance antitoxique rétablissant la coagulabilité du sang et permettant à l'animal de résister à une intoxication ultérieure. S'il en est ainsi, il semble possible de provoquer cette réaction de l'organisme chez un chien normal en lui transfusant du sang de peptone dans les vaisseaux. Ce chien pourrait alors être peptonisé quelque temps après la transfusion sans que le sang perdît la faculté de se coaguler. »

Ainsi, Contejean est le premier à rechercher une véritable antitoxine dans le sang d'un chien immunisé contre la peptone. Il est le premier à rechercher l'existence d'une immunité passive au sens où la comprenaient les biologistes depuis les expériences de Behring et de Roux.

Les expériences citées par l'auteur n'ont pas toujours des résultats concordants. Tantôt, en injectant dans les veines d'un chien neuf du sang de chien peptoné, on préserve le chien neuf contre les effets néfastes d'une injection ultérieure de peptone. Tantôt, les résultats « ne sont pas toujours aussi brillants », dit Contejean, et l'injection intraveineuse de sang peptoné ne préserve nullement un chien contre la peptone. Après cette seconde injection, le sang reste incoagulable *in vitro* jusqu'au lendemain.

Contejean paraît être plus heureux dans ses expériences d'immunité passive, lorsque, au lieu d'injecter du sang de peptone dans les veines, il injecte dans le péritoine d'un animal neuf du sérum provenant d'un chien peptoné dont le sang était redevenu coagulable. Malgré ses résultats négatifs, Contejean conclut à l'existence de l'immunité passive et dit : « On peut protéger partiellement un chien contre l'action anticoagulante d'une injection de peptone en lui injectant préalablement dans les vaisseaux une petite quantité de peptone ou dans le péritoine du sérum de sang de chien momentanément immunisé vis-à-vis de l'effet anticoagulant de la peptone. »

Dans son second travail, Contejean (1) pose nettement la question de l'existence d'une antitoxine en disant : « Chez le chien immunisé vis-à-vis de l'action anticoagulante de la peptone sur le sang et résistant à une nouvelle injection intravasculaire de cet albuminoïde, l'organisme peut, ou bien détruire le produit anticoagulant en même temps qu'il prend naissance quelque part, ou bien ne pas le sécréter en quantité suffisante pour entraver la coagulation du sang. » Il fait alors une expérience qui montre que si une injection de peptone faite à un chien momentanément réfractaire ne détermine pas l'incoagulabilité du sang, c'est que la substance qui entrave la coagulation ne se produit pas en quantité suffisante dans son organisme. En effet, le chien immunisé de Contejean, dont le sang reste coagulable après une seconde injection de peptone, présente des phénomènes d'incoagulabilité très nets lorsqu'on lui injecte de la substance anticoagulante fabriquée par l'autre animal.

Donc, un chien immunisé ne détruit pas la substance anticoagulante. S'il ne réagit pas à une seconde injection, c'est que les organes formateurs de la substance anticoagulante, en particulier le foie, n'en élaborent plus.

Ainsi, d'après Contejean, la clef de l'immunité peptonique serait un épuisement du foie, et non pas la présence de substances antitoxiques dans le torrent circulatoire.

Le second travail de Contejean vient infirmer les résultats du premier. Si les humeurs de l'animal immunisé ne contiennent pas de substances antitoxiques, comment expliquer l'immunité passive conférée dans certain cas, par Contejean, à des chiens neufs par injection de sang ou de sérum de chien immunisé?

Le second travail de Contejean explique les résultats négatifs du premier travail et n'en confirme pas les résultats positifs.

Spiro et Ellinger (2) reprennent la question de l'antitoxine fabriquée par l'organisme au moment où celui-ci est immunisé contre la toxine anticoagulante. Ils rappellent les travaux de Behring et de Roux sur les antitoxines et se demandent si

(1) CONTEJEAN, *Arch. de Physiol.*, 1895, p. 245.

(2) SPIRO et ELLINGER, *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, 1897, p. 121.

l'on ne peut appliquer ces données générales à l'immunité contre la peptone. Les auteurs notent les contradictions qui existent entre le premier et le second travail de Contejean. Auquel se rallier? Au premier, dans lequel Contejean démontre la présence d'une véritable antitoxine dans le sang des animaux immunisés? Au second, dans lequel le même auteur ne trouve plus d'antitoxine dans le sang, mais où il montre que l'animal ne réagit pas à une seconde injection de peptone, parce que les organes qui fabriquent des poisons anticoagulants se trouvent épuisés et ne peuvent plus l'élaborer?

Spiro et Ellinger n'admettent pas la théorie de l'épuisement, car ils trouvent dans la lymphe des animaux immunisés une substance anticoagulante qui ne peut être décelée dans le sang.

Les auteurs, pour démontrer le non-épuisement des organes producteurs, auraient dû faire l'expérience cruciale et montrer expérimentalement que, chez un chien immunisé, les organes formateurs peuvent encore créer de la substance anticoagulante. Ils ne l'ont pas fait et ont conclu à la conservation de l'activité de ces organes en se basant sur l'existence de la substance anticoagulante dans la lymphe à un moment où on ne peut plus la déceler dans le sang.

Ce fait n'est pas une preuve absolue de l'activité des organes formateurs pendant l'immunité peptonique. On peut l'interpréter tout simplement en supposant que la substance anticoagulante, formée primitivement après la première injection de peptone, disparaît plus lentement de la lymphe que du sang.

Cette interprétation est d'autant plus plausible que, d'après les résultats de Spiro et Ellinger, la quantité de substance anticoagulante dans la lymphe des animaux immunisés est tellement petite qu'elle ne provoque que des retards très peu appréciables de coagulation.

Spiro et Ellinger, n'admettant pas la théorie de l'épuisement des organes producteurs de la substance anticoagulante, cherchent à rapprocher le mécanisme de l'immunité propeptonique de celui de l'immunité microbienne :

1° Dans les deux cas, il existe une immunité naturelle chez certains animaux et une immunité acquise chez d'autres ;

2° Dans les deux cas, on peut neutraliser ou diminuer l'action toxique de la substance injectée par l'addition de

substances chimiquement définies; en effet, d'une part, l'addition de trichlorure d'iode atténue le pouvoir toxique de la toxine diphtérique; d'autre part, l'addition d'acide arabosique ou d'acide chlorhydrique empêche l'action toxique de la peptone;

3° Dans les deux cas, une injection préventive de poison vaccine les animaux contre les injections ultérieures. En effet, une injection préalable de peptone préserve un chien contre l'action anticoagulante d'une deuxième injection, tout comme une série d'injections de toxine diphtérique faites à un animal le préserve des effets néfastes de plusieurs doses mortelles injectées ultérieurement.

Se basant sur toutes ces analogies, mais sur aucun fait direct et démonstratif, les auteurs concluent à la présence dans le sang d'une véritable substance antagoniste exerçant son activité contre la substance anticoagulante élaborée par l'organisme après la première injection de peptone.

Les auteurs rapprochent l'apparition de ces substances antagonistes de la destruction leucocytaire qui se produit au moment de la première injection de peptone et remarquent que Schmidt et Lilienfeld sont arrivés à extraire des leucocytes des substances coagulantes et des substances anticoagulantes.

Gley (1), dans une première note, constate que l'injection de sang de lapin dans les veines du chien diminue beaucoup la coagulabilité du sang de ce dernier animal. Cette diminution est d'autant plus marquée que la quantité injectée est plus considérable. Il suffit de 20 à 50 centimètres cubes de sang pris dans la carotide d'un lapin et injecté le plus rapidement possible dans la veine saphène d'un chien de 5 à 8 kilogrammes pour que le phénomène ait lieu.

Il se produit plus ou moins tardivement, seulement dans les échantillons de sang recueilli au sortir d'une artère sur l'animal chez lequel cette transfusion a été faite, quelques petits fragments de caillots. Cet état du sang dure deux heures environ. Le sérum du sang de lapin normal n'a pas cette action, à la dose, du moins, que Gley n'a pas dépassée, de 4 centimètres cubes par kilogramme de chien. *In vitro*, le sang du lapin,

(1) GLEY, *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1896, p. 759.

mélangé en diverses proportions à du sang de chien, n'empêche nullement la coagulabilité de ce dernier.

Dans un deuxième travail, Gley (1) voit qu'une injection intraveineuse de sang de lapin à un chien immunise cet animal contre une injection ultérieure de peptone de Witte. Le sérum seul du sang de lapin ne provoque pas chez le chien d'immunité contre la peptone.

Les expériences de Gley paraissent démontrer la présence dans le sang du lapin, de substance antagoniste pour les produits anticoagulants sécrétés par le chien à la suite de l'injection de peptone.

L'existence d'une substance antagoniste dans le sang du lapin pourrait expliquer l'immunité naturelle du lapin contre la peptone. Cette substance antagoniste pourrait neutraliser la substance anticoagulante sécrétée par le foie du lapin sous l'influence de la peptone.

Mais cette conception serait contraire à celle de Fano, qui pose comme dogme qu'un lapin ne réagit pas à la peptone parce que son foie est incapable de produire la substance anticoagulante en présence de cet albuminoïde.

Gley et Lebas (2) étudient très soigneusement les conditions expérimentales de l'immunité peptonique chez le chien.

Ils injectent des quantités croissantes de peptone et étudient leur action. Ils tirent de leurs expériences :

1° La coagulation de sang de chien est influencée même par de faibles doses de peptone de Witte injectée rapidement. La dose minima susceptible de rendre le sang incoagulable est celle de 0 gr. 015 par kilogramme d'animal;

2° Pour ces faibles doses, la durée du temps pendant lequel le sang reste incoagulable croît avec la quantité de peptone injectée.

En outre, la durée du temps pendant lequel le sang reste incoagulable après sa sortie des vaisseaux, croît avec la quantité de peptone injectée et en raison inverse de la durée du temps qui sépare le moment de la prise du sang de celui de l'injection;

(1) GLEY, *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1897, p. 243.

(2) GLEY et LEBAS, *Arch. de Physiol.*, 1897, t. IX, p. 848.

3° Une dose donnée de peptone efficace injectée rapidement immunise d'une façon absolue contre la même dose, pour un temps qui croît avec la dose injectée ;

4° Une dose donnée de peptone efficace injectée rapidement peut immuniser contre une dose six fois, dix fois plus forte ; mais dans ces cas les caillots obtenus sont l'objet d'une fibrinolyse active ;

5° Une dose de peptone (0,01 par kilogramme) qui, même injectée rapidement, ne rend pas le sang incoagulable, peut immuniser contre une dose efficace. Dans ce cas encore, on peut observer la fibrinolyse des caillots obtenus ;

6° Une dose efficace (0,20 par kilogramme) injectée lentement et n'agissant pas dans ces conditions sur la coagulabilité du sang immunise absolument contre la même dose ou une dose plus forte (0,30) injectée rapidement une demi-heure après la cessation de l'injection lente.

Ces auteurs ont donc, dans leur travail, fixé d'une façon très exacte les conditions nécessaires et suffisantes pour obtenir sûrement chez le chien l'immunité après les injections de peptone.

Les expériences qui ont fourni ces résultats sont publiées tout au long dans la thèse de Lebas (1).

Citons encore le travail d'Athanasiu et Carvallo (2) dans lequel les auteurs constatent que les animaux à jeun sont très sensibles à la peptone et s'immunisent difficilement, tandis que les animaux en digestion sont au contraire peu sensibles à la peptone et s'immunisent facilement.

Nolf (3) reprend totalement la question et cherche à résoudre le problème de l'immunité propeptonique. Il montre d'une façon indubitable que le foie d'un animal immunisé peut encore sécréter de la substance anticoagulante. Pour cela, employant la méthode de Delezenne, il fait une circulation artificielle dans le foie d'un animal en état d'immunité propeptonique. Il fait passer dans le foie un mélange de sang et de peptone. Il

(1) G. LEBAS, *Thèse doct. en méd.* Paris, 1897, Carré et Naud.

(2) ATHANASIU et CARVALLO. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1897, p. 4094.

(3) P. NOLF, *Bull. Acad. roy. de Belgique*, 1902, p. 979. — *Arch. intern. de Physiol.*, 1904, t. II, p. 467.

constate que, chez un chien immunisé par injection lente de peptone, le liquide qui s'écoule du foie après le lavage est un sang parfaitement incoagulable. Le foie n'est donc pas épuisé.

Mais que devient alors la substance anticoagulante d'un animal immunisé, puisqu'on ne peut la déceler dans le torrent circulatoire? Elle doit être neutralisée par une substance antagoniste?

Nolf ne prononce pas le nom d'*anticorps*, mais il admet cependant la neutralisation du poison anticoagulant par une substance antagoniste. Se basant sur ses expériences, il pose la théorie suivante :

L'injection intraveineuse de propeptone fait sécréter aux leucocytes et aux parois vasculaires une substance qu'il appelle *fibrinolysine* et qui a la propriété de digérer le caillot qui se forme. Cette fibrinolysine fait sécréter au foie une substance appelée antithrombine, qui rend le sang incoagulable, mais qui a la propriété de neutraliser la fibrinolysine et d'être neutralisée elle-même par cette substance.

Suivant les conditions d'injection de la peptone, il y a prédominance dans le sang soit de fibrinolysine, soit d'antithrombine.

Dans le premier cas (obtenu après les injections lentes), il y a la neutralisation de toute l'antithrombine par la fibrinolysine, et même excès de cette dernière. Le sang coagule donc et il y a fibrinolyse.

Dans le deuxième cas (obtenu après injection brusque), il y a neutralisation de toute la fibrinolysine par l'antithrombine. Il n'y a donc pas de coagulation et pas de fibrinolyse.

L'immunité serait caractérisée par une abondance de fibrinolysine dans le sang. A ce moment, une nouvelle production d'antithrombine provoquée par une seconde injection de peptone est toujours neutralisée par la fibrinolysine circulante. Il n'y a donc pas de coagulation.

Cependant, d'après Nolf, il existe encore de l'antithrombine dans le foie, malgré la présence de fibrinolysine dans le sang. En effet, si on fait passer dans le foie d'un animal immunisé son propre sang qui était coagulable, celui-ci devient incoagulable. L'animal immunisé a trop de fibrinolysine, mais il a toujours de l'antithrombine accumulée dans le foie.

Ainsi donc, la fibrinolysine fonctionnerait absolument comme un anticorps circulant dans les humeurs et neutralisant l'antithrombine. C'est donc le triomphe de la théorie humorale de l'immunité propeptonique.

Nolf (1) voit, de plus, qu'un chien ne peut pas être immunisé par une injection sous-cutanée de peptone ou à la suite de l'ingestion d'une grande quantité d'albumine.

D'après cet auteur (2), le lapin réagit à la peptone, si on prend la précaution de lui injecter une grande quantité de cette substance (1 gramme par kilogramme).

En résumé, les différents auteurs qui ont étudié l'immunité propeptonique, sont en désaccord les uns avec les autres.

Pour Fano et Schmidt, il y a un épuisement du foie chez un animal en état d'immunité, cet organe ne pouvant plus produire de substance anticoagulante.

Spiro et Ellinger nient cet épuisement et concluent à l'existence, dans les humeurs, d'une substance antagoniste neutralisant la substance anticoagulante fabriquée par l'organisme.

Nolf, d'un autre côté, conçoit l'existence d'une fibrinolysine qui neutralise l'antithrombine.

En présence de ces contradictions, nous avons essayé de trancher le différent, en employant les méthodes que nous possédons depuis les travaux de Bordet pour l'étude de l'immunité générale. L'exposé de nos recherches fera le sujet des chapitres qui suivent.

(1) NOLF, *Arch. intern. de Physiol.*, 1904, t. II, p. 192.

(2) NOLF, *Arch. intern. de Physiol.*, 1905, t. III, p. 228.

## DEUXIÈME PARTIE

### LES ANTICORPS DANS L'IMMUNITÉ PROPEPTONIQUE

---

#### CHAPITRE IV

##### TECHNIQUE

Au cours de nos recherches, nous avons essayé de mettre en évidence, dans le sérum des chiens immunisés contre la peptone, des anticorps spécifiques pour la substance anticoagulante élaborée par le foie de l'animal après la première injection de peptone.

Au début de nos expériences, nous nous sommes heurtée à des difficultés assez grandes, surtout dans la technique de la préparation de l'antithrombine. En effet, dans nos circulations artificielles à travers le foie, nous obtenions, tantôt des liquides incoagulables, tantôt des liquides qui coagulaient assez rapidement.

Après de longs tâtonnements, nous nous sommes arrêtée à la technique que nous décrirons plus loin et qui ne donne jamais d'insuccès.

##### PRÉPARATION DU SÉRUM DE CHIEN IMMUNISÉ.

a) *Immunisation par injection brusque.* — On prend un chien à jeun pesant de 12 à 15 kilogrammes ; on l'immobilise sur la gouttière de Claude Bernard, on le rase sur le cou et sur une patte. On dénude une des carotides, on la

lie du côté céphalique et on pose sur la partie centrale une pince à pression continue.

On fait une incision entre le fil et la pince et on introduit dans l'artère l'extrémité d'une canule métallique, munie de son mandrin. On lie l'artère sur la canule et on laisse cette dernière à demeure.

On dénude alors la veine pédieuse. On y introduit une aiguille de seringue à bout olivaire et on lie la veine sur l'aiguille au-dessous de l'olive. On laisse à demeure dans cette aiguille un petit mandrin d'argent qui s'oppose à l'écoulement du sang qui pourrait refluer de la veine.

On reçoit 10 cent. cubes environ de sang carotidien dans un petit verre conique et on note le temps nécessaire à sa coagulation. La coagulation est dite complète quand on peut retourner le verre sur la table sans renverser son contenu.

On injecte brusquement dans la veine pédieuse, au moyen d'une seringue de 20 cent. cubes, une solution de peptone de Witte à 10 p. 100 faite dans l'eau physiologique. On injecte à l'animal 0 gr. 30 de peptone sèche par kilogramme d'animal, c'est-à-dire 3 cent. cubes de la solution de peptone. L'animal réagit violemment, il s'agite, pousse des cris, urine, puis il ne tarde pas à s'assoupir. Cinq minutes après, on fait une prise de sang à la carotide; on constate que la pression est excessivement basse et que le sang recueilli dans un verre reste incoagulable pendant plusieurs jours. On laisse l'animal attaché sur la gouttière pendant un quart d'heure encore et on fait des prises de sang toutes les cinq minutes pour bien constater son incoagulabilité. On lie alors la carotide et la veine pédieuse, on enlève les canules, on referme les deux plaies par quelques agrafes, on détache l'animal et on le porte à l'infirmerie.

Cinq heures plus tard, on attache de nouveau le chien sur la gouttière; on isole la seconde carotide et la seconde veine pédieuse et on introduit dans ces vaisseaux des canules qu'on laisse à demeure.

On fait une prise de sang; deux cas peuvent se présenter :  $\alpha$ ) le sang est encore incoagulable; il faut alors laisser l'animal sur la gouttière jusqu'au moment où le sang commence à coaguler normalement;  $\beta$ ) le sang coagule normalement; l'animal est presque certainement immunisé. On prélève 60 cent. cubes de sang dans un tube de centrifuge stérilisé, on porte celui-ci dans la turbine, qui est mise en mouvement. Pendant ce temps, on injecte brusquement dans la veine pédieuse du chien une nouvelle dose de solution de peptone égale à la première. Presque toujours l'animal ne réagit pas à cette injection: son sang coagule normalement, l'animal est immunisé.

Après une centrifugation d'un quart d'heure, le sang qu'on avait porté dans la turbine est coagulé dans le tube; le caillot se trouve tassé dans le fond et un liquide clair surnage.

On décante le sérum à l'aide d'une pipette à boule stérile et on le répartit dans quelques tubes stérilisés. Quelquefois le tube de la centrifugeuse offre un tout autre aspect. Le sang est pris en masse en un caillot compact qui ne laisse pas exsuder de sérum. On fait alors avec un bistouri stérilisé quelques incisions dans le caillot, on centrifuge de nouveau pendant un quart d'heure et, après ce temps, on obtient un sérum clair qu'on répartit comme précédemment dans des tubes stérilisés. C'est dans des sérums ainsi préparés que nous avons recherché la présence d'anticorps spécifiques.

b) *Immunisation par injection lente.*— Le procédé d'immunisation qui vient d'être décrit présente de nombreux inconvénients. En effet, on ne peut jamais être sûr d'avoir un chien immunisé après les cinq heures d'attente. De plus, l'animal qui a reçu une première injection de peptone s'agit à l'infirmierie et, comme son sang est incoagulable, il fait quelquefois de très graves hémorragies. Nous avons eu même, rarement il est vrai, des cas de mort subite entre les deux injections de peptone.

On peut employer une autre méthode d'immunisation qui est celle de l'injection lente. Voici comment on procède :

Un chien de 12 à 15 kilogrammes est immobilisé sur la gouttière de Claude Bernard, on le rase au cou et à la patte ; on isole la carotide et la veine pédieuse. On fixe une canule métallique, munie de son mandrin, dans la carotide, et une aiguille de seringue à bout olivaire dans la veine pédieuse. On fait une prise de sang de 10 cent. cubes environ, à la carotide ; on le reçoit dans un petit verre conique et on note le temps de la coagulation. On procède alors à l'injection de la peptone. On se sert pour cela de la solution dont on a usé précédemment, c'est-à-dire une solution à 10 p. 100, dont on injectera 3 cent. cubes par kilogramme d'animal. On fait l'injection comme il suit : on injecte dans la veine pédieuse 0,5 cent. cubes et on attend cinq minutes ; puis de nouveau 0,5 cent. cubes avec un repos de cinq minutes et ainsi quatre fois de suite. On injecte ensuite 2 cent. cubes toutes les cinq minutes. Un chien de 15 kilogrammes reçoit ainsi 45 cent. cubes de peptone en deux heures environ. Pendant le cours des injections, on fait de temps à autre des prises à la carotide et on constate que le sang coagule normalement. Jamais l'animal ne présente d'agitation, il se plaint de temps à autre comme tout chien immobilisé.

Quand toute la peptone a été injectée, on fait une saignée de 50 cent. cubes et on porte le sang à la centrifugeuse. On injecte alors brusquement de la peptone dans les veines à raison de 0 gr. 30 par kilogramme d'animal ; on ne constate aucune excitation. Une saignée faite dix minutes après cette injection montre que le sang coagule normalement.

Après quinze minutes de centrifugation, on décante le sérum provenant de la saignée précédente et on le répartit dans des tubes stérilisés.

#### PRÉPARATION ANTICOAGULANTE DE LA SUBSTANCE.

Au début de nos recherches, nous avons longuement tâtonné pour obtenir d'une façon certaine un liquide anticoagulant par lavage du foie avec de la peptone.

Nous fîmes d'abord circuler dans le foie d'un animal saigné une solution de peptone de Witte à 10 p. 100. Les premières parties du liquide qui

s'écoulait par la veine cave coagulaient spontanément. Les dernières parties étaient constituées par un liquide clair, jaunâtre qui, ajouté à du sang normal, tantôt le rendait incoagulable, tantôt, au contraire, précipitait sa coagulation.

Plus tard, nous fîmes circuler dans le foie un mélange à parties égales de sang de chien normal et d'une solution de peptone à 10 p. 100. Là encore, nous obtenions un liquide qui tantôt coagulait spontanément, tantôt était absolument incoagulable et empêchait la coagulation d'un sang neuf. Finalement, nous nous sommes arrêtée à la technique suivante : on immobilise sur le dos un chien à jeun depuis vingt-quatre heures et pesant de 12 à 15 kilogrammes. On rase largement le cou et toute la face ventrale. On isole la carotide et, à l'aide d'une canule de verre de fort calibre, on le saigne rapidement à blanc. Immédiatement après la mort, on incise la peau tout le long de la ligne médiane, on la libère rapidement de ses adhérences et on rabat sur les côtés. On incise les muscles sur la ligne blanche, puis, à l'aide d'un costotome, on résèque les côtes à droite et à gauche, à trois travers de doigt de la ligne médiane. On coupe le diaphragme, les muscles intercostaux et on rabat sur la tête le plastron sternal. On a ainsi devant soi l'animal largement ouvert.

Un aide placé à gauche de l'animal saisit entre ses doigts le duodénum et l'attire en haut et vers lui. On aperçoit alors nettement la veine porte ainsi que la portion abdominale de la veine cave inférieure. On pose un fil sur cette veine cave et on lie fortement. Cette ligature est destinée à empêcher le reflux du liquide qu'on injectera ultérieurement dans la veine porte et qui est destiné à passer en totalité dans le foie.

On isole la veine porte sur une longueur de deux à trois centimètres ; on passe deux fils sous cette veine. Le fil qui est le plus près de l'intestin est serré par un double nœud complet. On saisit alors ce fil et, se servant de l'index de la main gauche comme d'un plan résistant, on incise la veine porte ; on introduit dans sa lumière une canule métallique munie de son mandrin. L'aide saisit alors le second fil, celui qui est le plus près du foie, le serre par un double nœud sur la gorge de la canule, qui se trouve ainsi fixée à demeure dans la veine porte.

Passant ensuite dans le thorax de l'animal, on isole la partie thoracique de la veine cave inférieure sur une longueur de quatre centimètres environ. On passe deux fils sous cette veine ; le fil supérieur est lié fortement par un double nœud ; on le saisit alors de la main gauche et on incise la veine entre ce fil et le diaphragme en se servant de l'index de la main gauche comme d'un plan résistant. Avec la main droite, on expulse le caillot qui s'est formé dans la veine cave. Alors, l'aide saisit avec deux pinces la lèvre inférieure de l'incision veineuse pour faciliter l'introduction de la canule. On porte dans cette ouverture béante une forte canule de verre de 7 millimètres de diamètre intérieur, taillée en biseau et portant en son milieu une gorge rétrécie. L'aide serre alors sur cette gorge le second fil et fixe fortement dans la veine cave inférieure la canule de verre dont l'extrémité libre avait été préalablement munie d'un tube de caoutchouc d'une longueur de 50 centimètres environ. Le foie se trouve ainsi préparé pour la circulation artificielle.

On prend un ballon de verre d'une contenance de 300 cent. cubes environ, portant une tubulure verticale à sa partie inférieure. Sur cette tubulure est fixé un tube de caoutchouc d'une longueur de 50 centimètres, muni à son extrémité libre d'une pièce mâle s'adaptant exactement à la pièce femelle de la canule fixée dans la veine porte.

On remplit le ballon avec de l'eau physiologique, chauffée à 40 degrés; on chasse l'air du tube et, après avoir retiré le mandrin de la canule fixée sur la veine porte, on introduit la pièce mâle, qui est en communication avec le ballon, dans la pièce femelle. Le liquide arrive dans le foie, l'organe se gonfle et du sang, contenant quelques caillots, commence à s'écouler par le tube de caoutchouc qui communique avec la veine cave inférieure. Quelquefois un caillot vient obstruer la canule de la veine cave; il faut alors enlever le caoutchouc et passer une sonde dans la canule de verre; le liquide jaillit, on replace ensuite le caoutchouc sur la canule et le lavage commence. On fait passer un litre d'eau physiologique dans le foie; celle-ci s'écoule de moins en moins teintée par l'orifice de la veine cave et finalement l'organe presque complètement décoloré est prêt à recevoir le sang peptoné.

Pendant la durée de cette opération, on fait immobiliser sur une seconde gouttière un chien sur lequel on prépare la carotide en y introduisant à demeure une canule et posant sur l'artère une pince à pression continue. Dès que le foie du premier chien est lavé, on prélève 100 cent. cubes de sang au second chien; on reçoit le sang dans une éprouvette graduée contenant au préalable 20 cent. cubes de peptone de Witte à 5 pour 100 faite dans l'eau physiologique. On mélange rapidement le sang et la peptone en retournant l'éprouvette sur la paume de la main. On verse ce liquide dans le ballon de verre qui communique avec la veine porte du chien mort. Le liquide passe dans le foie.

On voit un liquide clair s'écouler par le tube de caoutchouc fixé à la veine cave inférieure, il est constitué par l'eau physiologique qui se trouvait dans le foie. Puis le liquide devient sanguinolent; à ce moment, on obstrue le tube de caoutchouc en faisant pression avec les doigts et on maintient cette occlusion pendant deux minutes. Après ce temps, on cesse la pression, et on reçoit le liquide qui s'écoule dans une série de six verres coniques.

Les premières parties du liquide coulent d'elles-mêmes, puis l'écoulement s'arrête. En général, à ce moment, le ballon est complètement vidé, on pose une pince sur le caoutchouc et on place le ballon sur la gouttière. On saisit ensuite le foie à pleines mains et on exerce sur cet organe une pression lente et progressive. Le sang s'écoule alors par le caoutchouc qui communique avec la veine cave; on le reçoit dans des verres coniques à raison de 15 cent. cubes environ par verre. Le lavage du foie est terminé.

On obtient ainsi dans les six verres un volume total de sang peptoné de 90 cent. cubes environ.

Il arrive quelquefois que le sang coagule dans les premiers verres, mais toujours dans les quatre derniers, il reste incoagulable pendant quatre ou cinq jours, temps après lequel on jette le sang, qui ne présente pas trace de coagulation. Ce sang incoagulable additionné à raison d'une partie pour neuf parties de sang normal rend ce dernier incoagulable pendant un temps variable, quelquefois pendant dix-huit heures, quelquefois pendant cinq ou six heures seulement.

Il est bien entendu que tous ces retards de coagulation ne sont pas dus tout simplement à la présence de la peptone. Cette dernière substance est en trop petite quantité dans le mélange pour retarder sa coagulation *in vitro*. Ainsi, le mélange de sang et de peptone qu'on fait circuler dans le foie coagule

spontanément en quelques minutes si on le laisse dans un verre au lieu de le faire circuler dans le foie.

Le sang incoagulable sortant du foie contient donc la substance anticoagulante. On centrifuge le sang, on obtient un plasma clair qui servira aux expériences ultérieures.

## CHAPITRE V

### RECHERCHE DES ANTICORPS SPÉCIFIQUES DANS LE SÉRUM DES ANIMAUX IMMUNISÉS CONTRE LA PEPTONE

Nous avons vu dans les chapitres précédents que, depuis les travaux de Bordet, l'immunité doit être considérée comme caractérisée par la présence d'anticorps dans le sang des animaux immunisés.

Le sujet de ce chapitre est la recherche des anticorps spécifiques dans le sérum des chiens qui, ayant reçu une injection de peptone, ne réagissent plus à une deuxième injection de cette substance albuminoïde.

Ces anticorps, s'ils existent, peuvent être rangés, comme tous les anticorps, dans les deux grandes catégories : précipitines ou lysines. Quelle que soit la catégorie dans laquelle entreront ces anticorps, il faudra pour les caractériser constater leurs actions sur l'antigène qui les a engendrés. Cet antigène n'est pas la peptone elle-même, puisque celle-ci ne rend pas le sang incoagulable *in vitro*. Cet antigène est la substance sécrétée par le foie au moment où la peptone passe dans cet organe, puisque le liquide de lavage hépatique retarde la coagulation *in vitro*.

L'antigène est donc contenu dans le plasma du sang peptoné qui a circulé dans le foie et qu'on obtient par la méthode indiquée dans le chapitre IV. Les anticorps seront recherchés dans le sérum des chiens immunisés contre la peptone.

En résumé, nous allons tâcher de déceler la présence des précipitines et des lysines dans les mélanges de sérum de chien

immunisé et de plasma provenant du sang peptoné qui a passé dans le foie d'un chien neuf.

## RECHERCHE DES PRÉCIPITINES (1)

### EXPÉRIENCE I

#### A. — *Préparation du sérum immunisé.*

Un chien à jeun, pesant 18 kilogrammes, est attaché sur la gouttière. On prépare la carotide et la veine pédieuse, on fait une saignée d'essai et on constate que le sang coagule normalement en vingt minutes.

On injecte lentement, suivant la technique exposée au chapitre IV, dans la veine pédieuse 34 cent. cubes de peptone de Witte à 10 p. 100 (0 gr. 30 par kilogramme). L'injection lente de peptone de Witte est faite en deux heures de temps. Dix minutes après la fin de l'injection, on fait une saignée et on constate que le sang coagule en dix minutes. On fait alors une grande saignée de 50 cent. cubes, on porte à la centrifugeuse pour obtenir du sérum.

Tout de suite après la saignée, on injecte brusquement 36 cent. cubes de peptone à 10 p. 100. L'animal ne réagit pas. Dix minutes après cette injection, on constate que le sang coagule en onze minutes. L'animal peut donc être considéré comme immunisé et le sérum provenant du sang qu'on vient de centrifuger peut être considéré comme du sérum immunisé. C'est dans ce sérum que nous allons rechercher les précipitines.

#### B. — *Préparation de la substance anticoagulante.*

On immobilise sur une gouttière un chien à jeun pesant 15 kilogrammes ; on le tue par saignée et, en suivant la méthode exposée dans le chapitre IV, on lave son foie avec un litre d'eau physiologique, puis avec un mélange composé de 100 cent. cubes de sang normal et de 20 cent. cubes de peptone de Witte à 5 p. 100. Le liquide incoagulable qui s'écoule du foie est centrifugé, on en recueille le plasma. Ce plasma peut être considéré comme l'antigène capable de produire dans l'organisme d'un chien les anticorps présumés que nous allons rechercher dans le sérum immunisé.

#### C. — *Recherches des précipitines.*

On fait les mélanges suivants dans de petits tubes à essai d'un diamètre de 12 millimètres et d'une contenance de 10 cent. cubes :

(1) E. POZERSKI et M<sup>me</sup> POZERSKA, *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1911, t. LXX, p. 444.

Antigène 0 c.c. 1 + sérum immun. 0 c.c. 0 + eau physiol. 1 c.c. »  
Antigène 0 c.c. 1 + sérum immun. 0 c.c. 1 + eau physiol. 0 c.c. 9  
Antigène 0 c.c. 1 + sérum immun. 0 c.c. 3 + eau physiol. 0 c.c. 7  
Antigène 0 c.c. 1 + sérum immun. 0 c.c. 5 + eau physiol. 0 c.c. 5  
Antigène 0 c.c. 1 + sérum immun. 0 c.c. 7 + eau physiol. 0 c.c. 3  
Antigène 0 c.c. 1 + sérum immun. 1 c.c. » + eau physiol. 0 c.c. »

Sérum immun. 0 c.c. 1 + antigène 0 c.c. 0 + eau physiol. 1 c.c. »  
Sérum immun. 0 c.c. 1 + antigène 0 c.c. 1 + eau physiol. 0 c.c. 9  
Sérum immun. 0 c.c. 1 + antigène 0 c.c. 3 + eau physiol. 0 c.c. 7  
Sérum immun. 0 c.c. 1 + antigène 0 c.c. 5 + eau physiol. 0 c.c. 5  
Sérum immun. 0 c.c. 1 + antigène 0 c.c. 7 + eau physiol. 0 c.c. 3  
Sérum immun. 0 c.c. 1 + antigène 1 c.c. » + eau physiol. 0 c.c. »

On porte ces deux séries de tubes au bain-marie à 39 degrés.

Après trois heures, il n'y a pas trace de précipité dans aucun des tubes. Dans les trois derniers de la première série, on aperçoit quelques flocons. Ceux-ci sont uniquement constitués par de la fibrine très reconnaissable macroscopiquement et microscopiquement. Cette fibrine provient de l'action du fibrin ferment contenue dans la grande quantité de sérum ajouté au plasma antigène.

Dans cette expérience, nous avons fait varier soit la quantité d'anticorps présumé vis-à-vis d'une quantité fixe d'antigène (premier tableau), soit la quantité d'antigène vis-à-vis d'une quantité fixe d'anticorps présumé (deuxième tableau).

Dans les deux cas, nous avons avec de l'eau physiologique ramené tous les échantillons au même volume de liquide, c'est-à-dire 1,4 cent. cube.

Nous nous sommes donc mis dans toutes les conditions nécessaires et suffisantes pour constater la présence des précipitines. Devant le résultat de cette expérience, nous sommes en droit de dire *que le sérum d'un chien immunisé par injection lente de peptone, ne contient pas de précipitine vis-à-vis de la substance anticoagulante.*

## EXPÉRIENCE II

Dans l'expérience précédente, nous avons montré que le sérum d'un chien *immunisé par injection lente* de peptone ne contient pas de précipitines contre le poison anticoagulant.

Vérifions maintenant si le sérum d'un chien *immunisé par une injection brusque* de peptone contient une précipitine. Pour cela, opérons comme il suit :

### A. — Préparation du sérum immunisé.

Un chien à jeun, de 13 kilogrammes, est immobilisé sur la gouttière. On prépare la carotide et la veine pédieuse. Une saignée d'essai montre que le sang coagule en dix minutes. On injecte alors dans la veine pédieuse 6,5 cent. cubes d'une solution de peptone de Witte à 10 p. 100 (0 gr. 05 par kilogramme). Cette petite quantité de peptone rend le sang incoagulable. En effet, une saignée faite dix minutes plus tard donne un liquide incoagulable après vingt-quatre heures.

Cinq heures et demie après, on saigne l'animal à la carotide, on prélève quelques centimètres cubes de sang qui coagule en trois minutes. On fait alors une saignée de cinquante cent. cubes, on porte ce sang à la centrifugeuse. Dix minutes après, on injecte au chien la même dose de peptone que précédemment. Une saignée faite dix minutes plus tard, montre que le sang est normalement coagulable. On peut donc considérer le sérum obtenu par centrifugation avant la deuxième injection de peptone comme un sérum immunisé. Nous y rechercherons des précipitines.

### B. — Préparation de l'antigène.

On fait circuler dans le foie non lavé d'un chien préalablement saigné à blanc 100 cent. cubes d'une solution de peptone de Witte à 10 p. 100. Les premières parties qui s'écoulent par la veine cave coagulent spontanément. Le reste est constitué par un liquide très rouge qui ne coagule pas spontanément pendant plus de douze heures. On centrifuge et on recueille un liquide que l'on considère comme antigène, parce qu'il retarde de plusieurs heures la coagulation d'un sang normal.

### C. — Recherche des précipitines.

On fait les mélanges suivant dans de petits tubes à essai :

Antigène 0 c.c. 1 + sérum immun. 0 c.c. » + eau physiol. 1 c.c. »  
 Antigène 0 c.c. 1 + sérum immun. 0 c.c. 1 + eau physiol. 0 c.c. 9  
 Antigène 0 c.c. 1 + sérum immun. 0 c.c. 2 + eau physiol. 0 c.c. 8  
 Antigène 0 c.c. 1 + sérum immun. 0 c.c. 3 + eau physiol. 0 c.c. 7  
 Antigène 0 c.c. 1 + sérum immun. 0 c.c. 4 + eau physiol. 0 c.c. 6  
 Antigène 0 c.c. 1 + sérum immun. 0 c.c. 5 + eau physiol. 0 c.c. 5  
 Antigène 0 c.c. 1 + sérum immun. 0 c.c. 6 + eau physiol. 0 c.c. 4  
 Antigène 0 c.c. 1 + sérum immun. 0 c.c. 7 + eau physiol. 0 c.c. 3  
 Antigène 0 c.c. 1 + sérum immun. 0 c.c. 8 + eau physiol. 0 c.c. 2  
 Antigène 0 c.c. 1 + sérum immun. 0 c.c. 9 + eau physiol. 0 c.c. 1  
 Antigène 0 c.c. 1 + sérum immun. 1 c.c. » + eau physiol. 0 c.c. »

Sérum immun. 0 c.c. 1 + antigène 0 c.c. 0 + eau physiol. 1 c.c. »  
 Sérum immun. 0 c.c. 1 + antigène 0 c.c. 1 + eau physiol. 0 c.c. 9  
 Sérum immun. 0 c.c. 1 + antigène 0 c.c. 2 + eau physiol. 0 c.c. 8  
 Sérum immun. 0 c.c. 1 + antigène 0 c.c. 3 + eau physiol. 0 c.c. 7  
 Sérum immun. 0 c.c. 1 + antigène 0 c.c. 4 + eau physiol. 0 c.c. 6  
 Sérum immun. 0 c.c. 1 + antigène 0 c.c. 5 + eau physiol. 0 c.c. 5  
 Sérum immun. 0 c.c. 1 + antigène 0 c.c. 6 + eau physiol. 0 c.c. 4  
 Sérum immun. 0 c.c. 1 + antigène 0 c.c. 7 + eau physiol. 0 c.c. 3  
 Sérum immun. 0 c.c. 1 + antigène 0 c.c. 8 + eau physiol. 0 c.c. 2  
 Sérum immun. 0 c.c. 1 + antigène 0 c.c. 9 + eau physiol. 0 c.c. 1  
 Sérum immun. 0 c.c. 1 + antigène 1 c.c. » + eau physiol. 0 c.c. »

On porte ces deux séries de tubes dans un bain-marie à 39 degrés. Après quatre heures de séjour à cette température, on ne voit pas de trace de précipité. On laisse vingt-quatre heures à la température du laboratoire sans observer de précipité.

Ainsi donc, de cette expérience ainsi que de la précédente, on doit conclure à l'absence de précipitines spécifiques dans le sérum des animaux immunisés contre l'action anticoagulante de la peptone de Witte.

#### RECHERCHE DES LYSINES

Le problème de la recherche des précipitines est relativement simple. Il suffit, en effet, pour déceler ces anticorps dans un sérum, de mélanger *in vitro* dans des proportions convenables le sérum en question avec l'antigène qui a servi à immuniser l'animal. Si les précipitines existent, on ne tarde pas à voir apparaître dans le sein du liquide un précipité qui le plus souvent se sédimente lentement dans le fond du tube. Si le sérum ne contient pas de précipitines, tous les tubes sans exception contenant le mélange restent parfaitement clairs.

Le problème de la recherche des lysines est aussi simple lorsqu'il s'agit de rechercher ces anticorps spécifiques contre un antigène figuré, comme le globule rouge, par exemple. En effet, supposons qu'on ait injecté un lapin avec des globules rouges de mouton et qu'on veuille, après quelques injections, constater l'existence de lysines dans le sérum de l'animal. Il suffit pour cela de mélanger *in vitro* le sérum de lapin préparé avec une émulsion de globules de mouton. S'il n'y a pas de lysines dans le sérum, l'émulsion reste trouble, puis peu à peu les globules rouges tombent dans le fond du tube et le liquide qui surnage reste parfaitement clair, incolore et transparent.

Si, au contraire, le sérum contient une lysine, le liquide du mélange perd son opacité, devient parfaitement transparent, mais garde la belle coloration rouge, caractéristique de l'hémoglobine. Les globules de mouton ont été détruits, *lysés*; on en conclut à la présence d'une lysine dans le sérum de l'animal préparé.

Le problème de la recherche des lysines élaborées par un organisme contre un antigène non figuré, un sérum ou une toxine, par exemple, devient beaucoup plus difficile. En effet, comment constater, dans un mélange de sérum d'animal préparé et d'une substance albuminoïde ne contenant que des hypothétiques et invisibles micelles albuminoïdes, que ces dernières subissent une certaine fonte ou *lyse*, provoquée par le sérum?

La méthode de Bordet et Gengou, dite *méthode de fixation du complément*, permet de déceler les lysines formées par un organisme contre un antigène non figuré. Nous allons exposer ici le principe de cette méthode que nous avons employée pour rechercher les lysines spécifiques dans le sérum des animaux immunisés contre l'action anticoagulante de la peptone de Witte.

a) *Exposé de la méthode de Bordet et Gengou.* — Pour la compréhension de cette méthode, il faut résumer en quelques mots ce que nous savons sur les anticorps. Nous le ferons rapidement en renvoyant le lecteur aux chapitres dans lesquels il trouvera tout au long l'exposé des connaissances actuelles sur les anticorps.

Lorsqu'on injecte un lapin avec des globules rouges de mouton, le sérum de lapin devient, après quelques injections, hémolytique pour les globules de mouton. Cette propriété hémolytique est due à une hémolysine. Cette hémolysine se compose de deux parties :

1° L'alexine ou complément qui préexistait dans les humeurs de l'animal, et qu'on peut toujours trouver dans le sérum d'un lapin neuf;

2° Une sensibilisatrice ou ambocepteur qui se développe au cours de l'immunisation.

C'est l'alexine ou complément qui détruit les globules de mouton en se fixant sur ces globules grâce à la sensibilisatrice.

La sensibilisatrice est parfaitement spécifique, c'est-à-dire que si elle a été élaborée par l'organisme d'un animal sous l'influence d'injections de globules de mouton, elle fixera l'alexine uniquement sur les globules de mouton.

L'alexine est détruite par un chauffage d'une demi-heure à

56 degrés. La sensibilisatrice, au contraire, résiste à ce chauffage.

Si on chauffe à 56 degrés un sérum de lapin hémolytique pour les globules de mouton, ce sérum perd son pouvoir hémolytique par suite de la destruction de l'alexine. Mais puisque l'alexine existe dans le sérum d'un lapin neuf, on peut rendre au sérum préparé, chauffé à 56 degrés, son pouvoir hémolytique en le mélangeant avec une petite quantité de sérum de lapin neuf.

Nous avons vu plus haut que la sensibilisatrice était strictement spécifique; l'alexine, au contraire, ne l'est pas. On peut, en effet, réactiver un sérum de lapin préparé contre les globules de mouton et chauffé à 56 degrés non seulement par de l'alexine de lapin, mais encore par de l'alexine de tout autre animal, celle du cobaye, par exemple.

L'alexine est tout à fait dénuée de spécificité puisqu'une même alexine, celle du cobaye, par exemple, pourra réactiver toute sorte de sérums préparés et chauffés à 56 degrés. Elle réactivera tous les sérums hémolytiques artificiels, tous les sérums bactériolytiques, tous les sérums albuminolytiques.

C'est sur ce principe de l'affinité de l'alexine pour toutes les sensibilisatrices qu'est basée la méthode de fixation du complément. Supposons, par exemple, que nous voulions rechercher la présence d'anticorps diphtériques dans le sérum d'un cheval injecté de nombreuses fois avec de la toxine diphtérique. Nous opérons comme il suit.

Chauffons à 56 degrés le sérum de cheval préparé. Mélangeons une petite quantité de ce sérum avec une petite quantité de toxine diphtérique et une petite quantité de complément ou sérum de cobaye neuf.

Si le sérum de cheval préparé contient une sensibilisatrice ou anticorps capable de fixer le complément sur l'antigène-toxine diphtérique, le complément sera immobilisé par le complexe antigène + anticorps.

Si, au contraire, le sérum de cheval préparé ne contient pas de sensibilisatrice ou anticorps capable de fixer le complément sur l'antigène-toxine diphtérique, le complément restera libre.

Le problème de la recherche de la sensibilisatrice spécifique revient donc au problème qui consiste à vérifier si l'alexine est libre ou si elle est fixée. Mais comment voir si, dans un

tube contenant l'antigène, l'anticorps présumé et le complément, ce dernier est libre ou fixé?

Pour résoudre la question, introduisons dans ce tube que nous appelons A le contenu d'un tube B dans lequel on a mélangé préalablement une émulsion de globules de mouton et une petite quantité de sérum de lapin hémolytique pour le mouton et chauffé à 56 degrés.

Le contenu du tube B, avant son mélange avec A, n'hémolysait pas par manque de complément. Après le mélange avec A, le contenu de B hémolysera s'il trouve dans le tube A du complément libre. Il n'hémolysera pas s'il trouve dans le tube A un complément fixé.

Or, si le complément est libre dans A, c'est qu'il n'y a pas dans ce tube d'anticorps, ou lysine spécifique, capable de le fixer sur l'antigène. Si le complément est fixé, au contraire, c'est que cette lysine existe.

Finalement : 1° Si dans le mélange A + B il y a hémolyse, c'est qu'il y avait du complément libre dans A, c'est-à-dire qu'il n'y avait pas de sensibilisatrice spécifique. 2° Si dans le mélange A + B il n'y a pas d'hémolyse, c'est que le complément était fixé dans A, c'est-à-dire qu'il existait une sensibilisatrice spécifique.

Tel est le principe de la réaction de Bordet et Gengou qui permet de déceler la présence d'une lysine spécifique dans le sérum d'un animal préparé par des injections d'un antigène non figuré. Passons maintenant à la technique de cette réaction.

Supposons que l'on cherche dans un sérum de cheval des anticorps contre la toxine diphtérique, par exemple.

On porte, dans un petit tube à hémolyse A, 0 c.c. 1 de toxine diphtérique, 0 c.c. 1 de sérum à étudier et 0 c.c. 1 d'une dilution au quart de sérum du cobaye neuf qui contient le complément. On porte le tube A dans un bain-marie à 39 degrés et on le laisse à cette température pendant une heure. Après ce temps, il s'agit de voir si le complément est fixé sur l'antigène. A cet effet, on introduit dans le tube A un mélange B composé de 0 c.c. 1 de sérum de lapin préparé contre les globules de mouton, chauffé à 56 degrés, et de 1 cent. cube d'une émulsion à 1 pour 20 de globules de mouton dans de l'eau physiologique. On porte le tout au bain-marie à 39 degrés et on observe toutes les cinq minutes les progrès de l'hémolyse.

Si le sérum du cheval préparé contient des anticorps lytiques, le complément sera fixé et le mélange ne présentera pas trace d'hémolyse. Le contraire se produira si le sérum de cheval préparé ne contient pas de lysine spécifique.

Faite ainsi, l'expérience serait simple, mais elle prête à de graves critiques. En effet, qui nous dit que le complément n'a pas été fixé d'une façon toute banale par l'antigène tout seul ou l'anticorps tout seul, ces substances contenant à elles seules assez de lipoides ou de colloïdes pour fixer l'alexine et empêcher l'hémolyse ?

Pour répondre à cette objection, on fait une série de témoins dont on comprendra la nécessité une fois l'expérience faite.

L'expérience de fixation peut se résumer dans le tableau suivant :

| N <sup>os</sup><br>des<br>tubes. | A         |           |                       |                       |                | B                                 |                                       |                |
|----------------------------------|-----------|-----------|-----------------------|-----------------------|----------------|-----------------------------------|---------------------------------------|----------------|
|                                  | ANTIGÈNE  | ANTICORPS | COMPLÉMENT<br>au 1/4. | EAU<br>physiologique. |                | SÉRUM<br>lapin-<br>mouton<br>56°. | GLOBULES<br>de<br>mouton<br>au 1/20°. |                |
| 1                                | 0 c. c. 4 | —         | 0 c. c. 4             | 0 c. c. 2             | 1 heure à 39°. | 0 c. c. 1                         | 1 c. c.                               | 30 min. à 39°. |
| 2                                | —         | 0 c. c. 2 | 0 c. c. 4             | 0 c. c. 4             |                | 0 c. c. 4                         | 1 c. c.                               |                |
| 3                                | —         | —         | 0 c. c. 1             | 0 c. c. 3             |                | 0 c. c. 4                         | 1 c. c.                               |                |
| 4                                | —         | —         | 0 c. c. 4             | 0 c. c. 4             |                | —                                 | 1 c. c.                               |                |
| 5                                | 0 c. c. 1 | 0 c. c. 4 | 0 c. c. 1             | 0 c. c. 4             |                | 0 c. c. 4                         | 1 c. c.                               |                |
| 6                                | 0 c. c. 4 | 0 c. c. 2 | 0 c. c. 4             | —                     |                | 0 c. c. 4                         | 1 c. c.                               |                |

Le tube n° 5 représente l'expérience de fixation complète.

Le tube n° 6 représente une expérience de fixation avec une quantité de sérum préparé plus grande que dans le tube n° 5. On fait ce tube pour déceler la présence des anticorps dans le sérum préparé, dans le cas où celui-ci en contiendrait très peu.

Le tube n° 1 représente un témoin avec antigène seul, sans anticorps. Il prouvera, s'il y a fixation du complément dans les tubes n° 5 et 6, que cette fixation n'est pas produite par l'antigène tout seul.

Le tube n° 2 représente un témoin qui démontrera que la fixation du complément n'est pas produite par le sérum préparé tout seul.

Le tube n° 3, qui ne contient ni antigène ni anticorps et ne contient que le complexe hémolytique, hémolysera certainement et servira d'étalon représentant une hémolyse parfaite.

Le tube n° 4, ne contenant ni antigène, ni anticorps, ni sérum de lapin mouton, n'hémolysera certainement pas, faute

d'ambocepteur hémolytique. Il servira d'étalon d'hémolyse nulle.

Suivant les cas de déviation positive ou négative, nous aurons à comparer les tubes n<sup>os</sup> 5 et 6 au tube n<sup>o</sup> 3 ou au tube n<sup>o</sup> 4.

Les chiffres variables de la colonne verticale *eau salée* indiquent la quantité de ce liquide que l'on ajoute à chacun des tubes pour ramener leur volume final à une même capacité, 4 c.c. 5.

Si par hasard le tube n<sup>o</sup> 1 n'hémolysait pas, c'est que la quantité d'antigène employé est trop grande, puisqu'elle fixe elle-même le complément. Il faudra alors recommencer toute l'expérience en employant une dose d'antigène moindre, et telle que l'hémolyse dans le n<sup>o</sup> 1 soit complète après une demi-heure.

S'il en est de même du tube n<sup>o</sup> 2, on réduira la quantité d'anticorps employé.

Si le tube n<sup>o</sup> 3 hémolyse en quelques secondes, il faudra refaire toute l'expérience en employant une dose plus petite de complément, car on a tout intérêt à employer la dose minima de complément suffisante pour provoquer l'hémolyse en un temps moyen, une demi-heure, par exemple. En effet, supposons que la quantité de complément employée soit très grande et que la quantité d'anticorps contenue dans le sérum soit très petite. Ce dernier fixera seulement une partie du complément et il y aura dans le mélange un résidu d'alexine non fixé qui sera capable d'hémolyser les globules. Constatant la présence d'une hémolyse, on en conclura à une absence d'anticorps; on sera dans l'erreur.

Dans toutes nos expériences, nous avons employé 0 c.c. 1 d'une dilution au quart de sérum provenant d'un cobaye saigné une heure avant l'expérience. Cette dose de complément employé avec 0 c.c. 1 de notre ambocepteur hémolytique lapin-mouton provoquait l'hémolyse complète de globules de mouton après une demi-heure, à 39 degrés.

Notre ambocepteur hémolytique était constitué par du sérum chauffé une demi-heure à 56 degrés, provenant d'un lapin ayant reçu quatre fois de suite, tous les cinq jours, une injection intra-péritonéale de 4 cent. cubes de globules de mouton lavés.

Le lapin fut saigné cinq jours après la dernière injection.

Ceci étant posé, passons à l'exposé des expériences dans lesquelles nous avons recherché, par la méthode de Bordet-Gengou, la présence d'une lysine spécifique dans le sérum des chiens immunisés contre la peptone.

b) *Application de la méthode de Bordet et Gengou à la recherche des lysines dans le sérum des animaux immunisés contre la peptone* (1).

### EXPÉRIENCE III

On recherche la présence des lysines spécifiques dans le sérum d'un chien immunisé par *injection lente* de peptone.

#### A. — *Préparation du sérum immunisé.*

Un chien à jeun, pesant 16 kilogrammes, est fixé sur une gouttière. On prépare la carotide et la pédieuse. Son sang coagule normalement en 18 minutes. On injecte dans la pédieuse 48 cent. cubes d'une solution de peptone de Witte à 10 p. 100. L'injection lente est faite en deux heures de temps, en employant la technique décrite dans le chapitre IV.

Dix minutes après la fin de l'injection, le sang coagule en dix minutes. On fait alors une saignée de 50 cent. cubes et on centrifuge pour obtenir le sérum. Une injection ultérieure de peptone dans les veines de l'animal reste sans effet et le sang du chien coagule en dix minutes. Cet animal est donc immunisé et son sérum convient à l'expérience.

#### B. — *Préparation de la substance anticoagulante.*

On fait passer dans le foie d'un chien à jeun pesant 18 kilogrammes, tué par saignée, un mélange de 150 cent. cubes de sang normal et de 20 cent. cubes d'une solution de peptone à 5 p. 100 (voir chapitre IV). On centrifuge le liquide qui s'écoule de la veine cave; on obtient un plasma incoagulable pendant plus de trois jours, qui, ajouté à du sang neuf, retarde très notablement la coagulation. Ce plasma peut être considéré comme antigène anticoagulant.

#### C. — *Recherche des lysines.*

Le plasma antigène et le sérum contenant les anticorps présumés sont chauffés une demi-heure à 56 degrés afin de détruire le complément qu'ils

(1) M<sup>me</sup> M. POZERSKA, *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, t. LXX, p. 591, 1911.

contiennent. Le sérum anticorps reste parfaitement clair. Le plasma antigène se trouble dans cette expérience. Ce trouble n'est pas constant dans la série d'expériences que nous avons faites.

Le complément employé est du sérum du cobaye dilué au quart. La sensibilisatrice hémolytique est du sérum de lapin préparé contre le mouton et chauffé à 56 degrés. Les globules employés sont des globules de mouton lavés trois fois par centrifugation dans l'eau physiologique.

On fait les mélanges suivants, en employant la technique établie plus haut.

| N <sup>os</sup><br>des<br>tubes. | ANTIGÈNE  | SÉRUM<br>immunisé. | COMPLÉMENT<br>au 1/4. | EAU<br>physiologique. | AMBOCEP.<br>hémoly-<br>tique<br>56°. | GLOBULES<br>au 1/20. |                  |
|----------------------------------|-----------|--------------------|-----------------------|-----------------------|--------------------------------------|----------------------|------------------|
| 1                                | 0 c. c. 1 | —                  | 0 c. c. 1             | 0 c. c. 2             | 1 heure à 39°.                       | 1 c. c.              | Thermost. à 39°. |
| 2                                | —         | 0 c. c. 2          | 0 c. c. 1             | 0 c. c. 1             |                                      | 1 c. c.              |                  |
| 3                                | —         | —                  | 0 c. c. 1             | 0 c. c. 3             |                                      | 1 c. c.              |                  |
| 4                                | —         | —                  | 0 c. c. 1             | 0 c. c. 4             |                                      | 1 c. c.              |                  |
| 5                                | 0 c. c. 1 | 0 c. c. 1          | 0 c. c. 1             | 0 c. c. 1             |                                      | 1 c. c.              |                  |
| 6                                | 0 c. c. 1 | 0 c. c. 2          | 0 c. c. 1             | —                     |                                      | 1 c. c.              |                  |

On porte les mélanges antigène + sérum immunisé + complément, ainsi que les mélanges témoins dans un bain-marie à 39 degrés. Après une heure, on ajoute le sérum hémolytique chauffé à 56 degrés et les globules de mouton. On porte au thermostat à 39 degrés et on note le temps que met chaque tube à hémolyser complètement. Ces temps sont les suivants :

Le tube n° 1 hémolyse en . . . . . 45 minutes.  
 Le tube n° 2 — en . . . . . 40 —  
 Le tube n° 3 — en . . . . . 25 —  
 Le tube n° 4 — nulle. . . . . après 2 heures.  
 Le tube n° 5 — en . . . . . 45 minutes.  
 Le tube n° 6 — en . . . . . 45 —

En lisant ces résultats, on voit qu'il n'y a aucune fixation de complément. Il y a bien un retard dans les tubes n° 5 et 6, quand on les compare au témoin hémolytique n° 3, mais on note le même retard dans les tubes n° 1 et 2, le plasma et le sérum ayant par eux-mêmes une légère affinité pour le complément à cause de la peptone qu'ils contiennent. On sait, du reste,

qu'une petite quantité de peptone introduite dans un système hémolytique retarde notablement l'hémolyse.

On voit donc que, dans le sérum d'un chien immunisé par une *injection lente* de peptone, il n'y a pas trace de lysines spécifiques.

#### EXPÉRIENCE IV

Dans l'expérience précédente, nous avons constaté l'absence d'anticorps dans le sérum d'un chien immunisé *par injection lente* de peptone. Dans l'expérience présente, nous allons rechercher les lysines dans le sérum d'un chien immunisé *par une injection brusque* de peptone.

##### A. — Préparation du sérum immunisé.

Un chien à jeun, pesant 10 kilogrammes, est immobilisé sur une gouttière. On prépare la carotide et la veine pédieuse. On constate que le sang de cet animal coagule normalement en quatre minutes. On injecte brusquement dans les veines 15 cent. cubes d'une solution de peptone à 10 p. 100. Dix minutes après, on constate l'incoagulabilité du sang provenant de la carotide. On détache le chien. Sept heures et demie après, on fixe à nouveau le chien sur l'appareil. On constate que son sang coagule en vingt minutes. Une demi-heure plus tard le sang coagule en dix minutes. On fait alors une saignée de 50 cent. cubes. On porte à la centrifugeuse pour obtenir du sérum. On injecte alors dans la veine pédieuse la même dose de peptone que précédemment, et on constate dix minutes après que le sang de l'animal coagule en vingt minutes. Le chien est donc immunisé et le sérum obtenu par centrifugation peut être considéré comme du sérum immunisé.

##### B. — Préparation de l'antigène.

Un chien de 15 kilogrammes, à jeun, est tué par saignée. On reçoit 150 cent. cubes de son sang dans 150 cent. cubes de peptone de Witte à 10 p. 100; on agite légèrement. Ce mélange est spontanément incoagulable pendant vingt minutes.

Une fois l'animal saigné, on prépare rapidement la veine porte et la veine cave inférieure; on lave le foie avec le sang peptoné. On recueille 135 cent. cubes de sang dans une série de six verres. Les 60 cent. cubes coagulent spontanément, le reste est indéfiniment liquide. On centrifuge et on obtient un plasma qui, ajouté à du sang normal, retarde sa coagulation de six heures. Ce plasma contient donc de l'antigène.

##### C. — Recherche des lysines.

On chauffe l'antigène et le sérum contenant les anticorps présumés à 56 degrés pendant une demi-heure. Les deux liquides restent clairs.

Pour faire la fixation du complément, on emploie comme alexine du sérum

de cobaye dilué au quart. L'ambocepteur hémolytique est du sérum de lapin préparé contre les globules de mouton, chauffé à 56 degrés. Les globules employés sont des globules de mouton lavés et émulsionnés dans dix-neuf parties d'eau physiologique. On fait les mélanges suivants dans de petits tubes à hémolyse :

| N <sup>os</sup><br>des<br>tubes. | ANTIGÈNE  | SÉRUM<br>immunisé. | COMPLÉMENT<br>au 1/4. | EAU<br>physiologique. | AMBOCEP.<br>hémoly-<br>tique.<br>56°. | GLOBULES<br>au 1/20°. |                  |
|----------------------------------|-----------|--------------------|-----------------------|-----------------------|---------------------------------------|-----------------------|------------------|
| 1                                | 0 c. c. 1 | —                  | 0 c. c. 1             | 0 c. c. 2             | 0 c. c. 1                             | 1 c. c.               | Thermost. à 39°. |
| 2                                | —         | 0 c. c. 2          | 0 c. c. 1             | 0 c. c. 1             | 0 c. c. 1                             | 1 c. c.               |                  |
| 3                                | —         | —                  | 0 c. c. 1             | 0 c. c. 3             | 0 c. c. 1                             | 1 c. c.               |                  |
| 4                                | —         | —                  | 0 c. c. 1             | 0 c. c. 4             | —                                     | 1 c. c.               |                  |
| 5                                | 0 c. c. 1 | 0 c. c. 1          | 0 c. c. 1             | 0 c. c. 1             | 0 c. c. 1                             | 1 c. c.               |                  |
| 6                                | 0 c. c. 1 | 0 c. c. 2          | 0 c. c. 1             | —                     | 0 c. c. 1                             | 1 c. c.               |                  |

Les mélanges antigène + sérum immunisé + complément, ainsi que les mélanges témoins sont portés à 39 degrés pendant une heure. On ajoute alors l'ambocepteur hémolytique et les globules de mouton, on porte à 39 degrés et on note le temps que met chaque tube pour hémolyser.

|                                    |                 |
|------------------------------------|-----------------|
| Le tube n° 1 hémolyse en . . . . . | 40 minutes.     |
| Le tube n° 2 — en . . . . .        | 15 —            |
| Le tube n° 3 — en . . . . .        | 15 —            |
| Le tube n° 4 — nulle. . . . .      | après 2 heures. |
| Le tube n° 5 — en . . . . .        | 40 minutes.     |
| Le tube n° 6 — en . . . . .        | 40 —            |

En lisant les résultats, on constate qu'il n'y a pas de fixation de complément.

Dans les tubes n° 5 et 6, il y a bien un retard dans l'hémolyse totale par comparaison avec le tube n° 3, mais ce retard n'est dû qu'à la grande quantité de peptone contenue dans l'antigène, ainsi que le prouve le tube n° 1. *Il n'existe donc pas de lysines dans le sérum d'un chien immunisé par une injection brusque de peptone.*

Dans cette expérience, nous avons employé comme embocepteur hémolytique du sérum de lapin préparé pour le mouton. Or, on peut faire une objection à cette technique. On sait, en effet, que le sérum de chien possède une hémolysine naturelle pour les globules de mouton. Une fois chauffée à 56 degrés cette hémolysine comme toutes les hémolysines naturelles,

n'est pas réactivable par un complément de cobaye ou du moins n'est que très difficilement réactivable.

Si dans cette expérience le complément avait été suffisant pour réactiver l'hémolysine naturelle contenue dans le sérum du chien préparé, on aurait pu avoir finalement une hémolyse des globules de mouton par cette hémolysine naturelle réactivée et non par l'ambocepteur lapin-mouton. Il y aurait dans ce cas une erreur dans l'interprétation finale des résultats.

Pour éviter cette erreur, nous avons combiné l'expérience de façon à employer, non plus des globules de mouton, mais des globules de chien, qui ne sont pas hémolysés par le sérum de chien.

Pour cela, il fallait préalablement préparer pendant un mois des lapins contre les globules de chien, afin d'obtenir un ambocepteur lapin-chien pour remplacer l'ambocepteur lapin-mouton. L'expérience de la recherche des lysines se présente alors de la façon suivante.

#### EXPÉRIENCE V.

L'antigène employé est le même que dans l'expérience IV. Il en est de même pour le sérum immunisé et le complément de cobaye.

L'ambocepteur hémolytique est du sérum de lapin préparé pour le chien. Les globules sont des hématies de chien lavés à l'eau physiologique par centrifugation et émulsionnés dans dix-neuf parties du même liquide.

On comprend que si le sérum immunisé contient des anticorps, le complément sera fixé et il n'y aura pas hémolyse des globules de chien. Si, par hasard, l'hémolysine naturelle du sérum préparé était réactivée par le complément, elle ne pourrait manifester son activité, puisque cette hémolysine naturelle est incapable de détruire les globules de chien.

Toute l'expérience se fait, à part ce détail, comme l'expérience précédente, et elle peut être résumée dans le tableau suivant :

| N <sup>os</sup><br>des<br>tubes. | ANTIGÈNE  | SÉRUM<br>immunisé. | COMPLÉMENT<br>au 1/4. | EAU<br>physiologique. |                   | AMBOCEP.<br>lapin-<br>chien. | GLOBULES<br>de<br>chien<br>au 1/20. |               |
|----------------------------------|-----------|--------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------|------------------------------|-------------------------------------|---------------|
| 1                                | 0 c. c. 1 | —                  | —                     | 0 c. c. 2             | 1<br>heure à 39°. | 0 c. c. 1                    | 1 c. c.                             | Therm. à 39°. |
| 2                                | —         | 0 c. c. 2          | 0 c. c. 1             | 0 c. c. 1             |                   | 0 c. c. 1                    | 1 c. c.                             |               |
| 3                                | —         | —                  | 0 c. c. 1             | 0 c. c. 3             |                   | 0 c. c. 1                    | 1 c. c.                             |               |
| 4                                | —         | —                  | 0 c. c. 1             | 0 c. c. 4             |                   | —                            | 1 c. c.                             |               |
| 4                                | 0 c. c. 1 | 0 c. c. 1          | 0 c. c. 1             | 0 c. c. 1             |                   | 0 c. c. 1                    | 1 c. c.                             |               |
| 6                                | 0 c. c. 1 | 0 c. c. 2          | 0 c. c. 1             | —                     |                   | 0 c. c. 1                    | 1 c. c.                             |               |

Le temps d'hémolyse est le suivant :

|              |                      |                 |
|--------------|----------------------|-----------------|
| Le tube n° 1 | hémolyse en. . . . . | 2 heures.       |
| Le tube n° 2 | — en. . . . .        | 30 minutes.     |
| Le tube n° 3 | — en. . . . .        | 30 —            |
| Le tube n° 4 | — nulle . . . . .    | après 6 heures. |
| Le tube n° 5 | — en. . . . .        | 2 heures.       |
| Le tube n° 6 | — en. . . . .        | 2 —             |

A la lecture des tableaux de ces deux dernières expériences, on est frappé de la lenteur avec laquelle marche l'hémolyse dans tous les tubes qui contiennent de l'antigène. On comprend aisément ce retard quand on constate que l'antigène contient à peu près 5 pour 100 de peptone. Or, on sait que la peptone retarde beaucoup tous les phénomènes hémolytiques.

La dernière expérience, venant ajouter ces résultats à ceux de l'expérience précédente, montre bien qu'il n'existe pas de lysine dans le sérum des chiens immunisés contre la peptone.

#### DÉMONSTRATION CRUCIALE DE L'ABSENCE D'ANTICORPS DANS LE SÉRUM IMMUNISÉ

Dans le chapitre précédent, nous avons démontré, en employant la technique adoptée pour l'étude de l'immunité générale, qu'il n'existe pas d'anticorps spécifiques dans le sérum des animaux immunisés contre la substance anticoagulante formée par le foie sous l'influence de la peptone.

Au point de vue général, on pourrait se contenter de cette

démonstration; mais au point de vue strictement physiologique on doit démontrer encore que le sang des animaux immunisés, passant avec de la peptone dans un foie normal, se comporte comme un sang normal (1).

En effet, si le sang d'un animal immunisé contient des anticorps spécifiques, il doit, en circulant avec de la peptone dans un foie normal, neutraliser la substance anticoagulante qui se forme dans le foie sous l'influence de la peptone.

Si, au contraire, le sang d'un animal immunisé contre la peptone ne contient pas d'anticorps spécifiques, il ne doit pas, en circulant dans un foie normal avec de la peptone, neutraliser la substance anticoagulante formée.

Pour vérifier le fait, nous avons entrepris l'expérience suivante :

#### EXPÉRIENCE VI.

##### A. — *Préparation du sang immunisé.*

Un chien à jeun, pesant 13 kil. 500, est immobilisé sur une gouttière. On prépare la carotide et la veine pédieuse. On constate que le sang de la carotide coagule en dix minutes. On injecte brusquement 20 cent. cubes d'une solution de peptone de Witte à 10 p. 100 dans la veine pédieuse (0 gr. 15 par kilogramme). Dix minutes après, on constate que le sang de la carotide est incoagulable. On détache le chien et on le porte à l'infirmerie. Cinq heures après, on rattache l'animal sur la gouttière et on constate que le sang coagule en dix minutes. On injecte alors brusquement 20 cent. cubes de la même solution de peptone dans la veine pédieuse. Dix minutes après, on constate que le sang de la carotide coagule en dix minutes. On considère le chien comme immunisé, et le sang de cet animal servira à laver le foie d'un chien normal.

##### B. — *Lavage d'un foie normal.*

On prend un chien à jeun pesant 12 kilogrammes, on le saigne à blanc, on prépare rapidement la veine cave et la veine porte et on fait passer dans le foie un mélange composé de 100 cent. cubes de sang du chien précédemment immunisé et de 100 cent. cubes d'une solution de peptone à 10 p. 100. Ce mélange est fait extemporanément. Le liquide s'écoule lentement, on le reçoit à la sortie de la veine cave dans une série de cinq verres. Il coagule spontanément dans les deux premiers. Le contenu des trois autres verres, 80 cent. cubes environ, reste incoagulable pendant plus de vingt-quatre

(1) E. POZERSKI et M<sup>me</sup> POZERSKA, *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1911, t. LXX, p. 592.

heures. On centrifuge ce sang incoagulable et on conserve le plasma jusqu'au lendemain. Celui-ci contient environ 5 p. 100 de peptone de Witte.

Le lendemain, on prend un troisième chien, on le saigne à la carotide et on recoit son sang dans deux verres jusqu'à un trait de jauge correspondant à une contenance de 10 cent. cubes. Dans le premier verre, on avait préalablement versé 1 cent. cube de plasma de circulation hépatique; l'autre verre contenait préalablement 1 cent. cube d'une solution de peptone de Witte à 5 p. 100. On agite le contenu des deux verres pour établir un mélange parfait. Le mélange sang-peptone coagule en dix-huit minutes; le mélange sang-plasma est encore incoagulable après vingt-quatre heures.

Cette expérience montre bien que le sang d'un chien immunisé, circulant avec de la peptone de Witte dans un foie normal, ne neutralise pas la substance anticoagulante formée par cet organe en présence de la peptone.

Ces résultats, venant s'ajouter à la démonstration faite précédemment de l'absence des anticorps, au moyen de la technique employée par les bactériologistes, confirment notre conviction du manque d'anticorps dans l'immunité peptonique.

Nous sommes en présence de trois données montrant l'absence de ces anticorps :

1° L'immunité propeptonique apparaît très rapidement, elle peut être constatée une heure après l'injection de peptone. Or, dans aucun cas d'immunité générale, caractérisée par la présence d'anticorps contre un antigène figuré ou non figuré, on ne voit l'immunité s'établir aussi rapidement.

2° En employant la méthode des mélanges de l'antigène anticoagulant avec le sérum immunisé, nous n'avons jamais pu constater l'existence d'une précipitine ou d'une lysine spécifique.

3° Nous avons démontré que le sang des animaux immunisés ne neutralise pas l'antigène formé par le foie sous l'influence de la peptoné.

Nous pouvons en conclure que l'animal immunisé contre la peptone ne possède pas d'anticorps contre le poison anticoagulant. D'autre part, nous avons vu à la fin du chapitre II qu'on ne peut concevoir d'immunité sans anticorps. *L'immunité propeptonique n'est donc pas une véritable immunité. Ce n'est qu'une pseudo-immunité.*

Devant ces faits et devant la conception nouvelle qu'ils entraînent avec eux, il nous a fallu chercher une explication

de l'immunité propeptonique et entreprendre de nouvelles recherches sur l'immunité passive et sur l'immunité naturelle contre la peptone.

En effet, comment concevoir que le sang d'un animal immunisé peut transmettre à un animal neuf des propriétés immunisantes, si ce sang ne contient pas en lui-même d'anticorps spécifiques?

Comment parler d'immunité naturelle chez le lapin, si les anticorps spécifiques contre le poison anticoagulant n'existent pas?

Pour répondre à toutes ces questions, nous avons entrepris des recherches, qui feront le sujet de la troisième partie de notre travail.



## TROISIÈME PARTIE

### IMMUNITÉ PASSIVE ET IMMUNITÉ NATURELLE CONTRE LA PEPTONE

---

#### CHAPITRE VI

##### IMMUNITÉ PASSIVE CONTRE LA PROPEPTONE

Les expériences déjà anciennes de Contejean semblaient avoir définitivement résolu la question de l'immunité propeptonique passive. En effet, Contejean (1) injecte, dans les veines d'un chien B pesant 18 kilogs, 18 cent. cubes de sang d'un chien A auquel il avait préalablement injecté de la peptone. Il constate que le chien B ne réagit plus à l'injection d'une quantité de peptone qui devait être suffisante pour provoquer l'incoagulabilité de son sang. *Le chien B avait donc été immunisé* par le sang du chien A.

De plus, Contejean voit que si on injecte dans le péritoine de chien B le sérum d'un chien A immunisé contre la propeptone, le chien B reste insensible à l'action anticoagulante des albumoses. *Le chien B est donc immunisé* par le sérum du chien A.

Le problème de l'immunité propeptonique semblait donc être résolu.

(1) CONTEJEAN, *Arch. de Physiologie*, 1895, p. 45.

Plus récemment, Nolf (1), par un procédé différent, arrive à un résultat tout opposé. Il procède de la façon suivante :

Un animal A reçoit une ou plusieurs injections brusques de peptone de Witte. Trois heures après la dernière injection, il est mis en connexion vasculaire avec un chien normal B de même taille. La circulation croisée est maintenue pendant cinq minutes. Après séparation des deux chiens, on les éprouve tous deux dans leur résistance à l'injection intraveineuse brusque de propeptone.

Le résultat est très net. Le chien A avait gardé toute son immunité, le chien B *ne présentait pas trace d'immunité*.

Il existait donc une discordance entre les résultats *définitifs* de Contejean et ceux de Nolf.

Théoriquement, nous étions enclin à admettre plutôt les résultats de Nolf que ceux de Contejean. Il nous paraissait difficile et même impossible d'admettre que le sérum ou le sang total d'un animal immunisé puisse contrebalancer l'effet nocif d'un antigène chez un animal neuf, si ce sérum ou ce sang ne contiennent pas d'anticorps spécifiques contre cet antigène.

Dans l'expérience de Contejean, on comprend difficilement que le sérum d'un animal immunisé, injecté dans le péritoine d'un chien neuf, puisse être aussi rapidement absorbé pour combattre utilement les effets de la substance anticoagulante. Il est vrai que, dans sa première expérience, l'auteur injecte avec efficacité du sang total provenant d'un animal immunisé dans les veines d'un chien neuf. Là, la diffusion est rapide et le sang immunisé se trouve rapidement en contact avec l'antigène.

Mais, malheureusement, cette dernière expérience est infirmée par les résultats de Nolf. En établissant une circulation croisée entre un chien immunisé et un chien neuf, Nolf constate nettement que le sang du chien immunisé passant dans le torrent circulatoire du chien neuf, n'empêche nullement chez ce dernier animal l'action anticoagulante de la peptone.

Nous avons repris la question en usant des méthodes généralement employées par les bactériologistes qui s'occupent d'immunité.

Quand on veut juger de l'efficacité d'un sérum antitoxique,

(1) NOLF, *Arch. internat. de Physiol.*, 1904, p. 467.

le sérum antidiphthérique, par exemple, il faut expérimenter de trois façons différentes :

1° Il faut injecter, à un animal neuf, en même temps la toxine et l'antitoxine présumée. Le mélange intime de deux substances se fait dans le torrent circulatoire et on observe, alors, si la dose mortelle de toxine injectée est encore capable d'exercer son action nocive sur l'organisme ;

2° Il faut injecter, en premier lieu, le sérum immunisé à un animal neuf et injecter, ensuite, après un temps variable, la toxine. Si le sérum immunisé protège l'animal contre les effets néfastes de la toxine, on dit que ce sérum exerce *une action préventive* pour l'antigène en question ;

3° Il faut injecter en premier lieu la toxine et, au moment où la maladie est déclarée, injecter le sérum de l'animal immunisé. Si la seconde injection fait disparaître les symptômes de la maladie et amène la guérison, on dit que le sérum possède *un pouvoir curatif*.

Nous avons employé ces différentes méthodes pour la recherche de l'immunité passive que nous avons essayé de conférer à des chiens neufs en leur injectant soit du sérum de chien immunisé, soit du sérum de lapin qui présente une immunité naturelle contre la peptone.

Nous rapportons ici quelques types d'expériences que nous avons faites (1).

## EFFETS DE L'INJECTION SIMULTANÉE DE L'ANTIGÈNE ET DU SÉRUM IMMUNISÉ

### EXPÉRIENCE VII

#### A. — *Préparation du sérum immunisé.*

Un chien à jeun, pesant 10 kilogrammes, est fixé sur une gouttière. On prépare la carotide et la veine pédieuse. On injecte lentement, en deux heures de temps, dans les veines 30 cent. cubes d'une solution de peptone de Witte à 10 p. 100. Après la fin de l'injection, on constate que le sang coagule en vingt minutes. On fait alors une saignée de 100 cent. cubes, on centrifuge et on obtient un sérum clair. On vérifie alors que le chien est immunisé, en

(1) E. POZERSKI et M<sup>me</sup> POZERSKA, *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1911, t. LXXI, p. 80.

injectant brusquement 30 cent. cubes de la même solution de peptone. On constate que le sang coagule en dix minutes. L'animal est donc immunisé.

### B. — *Recherche de l'immunité passive.*

On prend un second chien de 10 kil. 500, on le fixe sur la gouttière et on lui injecte dans les veines 60 cent. cubes d'un mélange à parties égales de peptone à 10 p. 100 et de sérum immunisé.

Dix minutes après, on fait une prise de sang. On constate qu'il est incoagulable. On fait régulièrement des prises toutes les vingt minutes pendant trois heures. Le sang recueilli ainsi reste incoagulable pendant plus de vingt-quatre heures.

Dans cette expérience, la peptone et le sérum immunisé ont atteint le foie en même temps. La présence de sérum immunisé au niveau de la cellule hépatique n'a nullement empêché cette dernière d'élaborer la substance anticoagulante sous l'influence de la peptone, et le sérum immunisé n'a exercé aucune action neutralisante sur cette substance une fois formée, puisque les prises de sang faites pendant trois heures après l'injection du mélange ont toujours donné un liquide incoagulable.

## RECHERCHE DE L'ACTION PRÉVENTIVE

### EXPÉRIENCE VIII

#### A. — *Préparation du sérum immunisé.*

Un chien à jeun, pesant 12 kilogrammes, est fixé sur une gouttière. On prépare la carotide et la veine pédieuse. On injecte lentement dans les veines, pendant deux heures et demie, 36 cent. cubes d'une solution de peptone de Witte à 10 p. 100. On constate alors que le sang de l'animal coagule normalement. On fait ensuite une saignée de 100 cent. cubes, on centrifuge et on obtient un sérum clair. On vérifie l'immunité du chien en lui injectant la même quantité de solution de peptone que précédemment. On constate que cette injection n'exerce aucune action anticoagulante et que le sang coagule en dix minutes. Le sérum obtenu par centrifugation peut donc être considéré comme un sérum immunisé.

#### B. — *Recherche de l'immunité passive.*

Un chien à jeun, pesant 10 kilogrammes, est immobilisé sur une gouttière ; on prépare la carotide et la veine pédieuse. On injecte dans la veine 20 cent. cubes de sérum immunisé et on attend une demi-heure. Deux saignées faites à la carotide pendant cet intervalle de temps montrent que le sang coagule en neuf minutes.

Après ce temps, on injecte dans les veines 20 cent. cubes d'une solution de peptone de Witte à 10 p. 100. On fait une prise de sang dix minutes après et on constate que le sang est incoagulable. Des saignées faites pendant deux heures, de demi-heure en demi-heure, fournissent un sang qui reste liquide pendant plus de vingt-quatre heures.

On voit donc qu'une injection de sérum immunisé faite une demi-heure avant l'injection d'une dose toxique de peptone ne protège pas l'organisme contre les effets nocifs de cette substance. En d'autres termes, le sérum d'un chien immunisé contre la peptone ne possède aucun pouvoir préventif contre l'action anticoagulante produite par l'injection de cet albuminoïde.

## RECHERCHE DE L'ACTION CURATIVE

### EXPÉRIENCE IX

#### A. — *Préparation du sérum immunisé.*

Le sérum de chien immunisé employé dans cette expérience est le même que celui dont on s'est servi dans l'expérience précédente.

#### B. — *Recherche de l'immunité passive.*

Un chien à jeun, pesant 44 kilogrammes, est fixé sur une gouttière. On prépare la carotide et la veine pédieuse. On injecte brusquement dans la veine 22 cent. cubes de peptone de Witte à 10 p. 100. Des prises de sang faites de dix minutes en dix minutes, pendant une heure et demie, donnent un sang qui est encore incoagulable après vingt-quatre heures.

Une heure et demie après l'injection de peptone, on injecte dans les veines du chien 22 cent. cubes de sérum immunisé. Dix minutes après, on fait une saignée à la carotide et on constate que le sang est incoagulable, même après vingt-quatre heures. Quelques saignées, faites pendant la durée de l'heure qui suit l'injection de sérum, donnent le même résultat.

Ainsi donc, le sérum d'un animal immunisé contenant de la peptone ne possède aucune action curative vis-à-vis de l'action anticoagulante produite par l'injection de cette substance albuminoïde.

RECHERCHE DE L'IMMUNITÉ PASSIVE  
APRÈS UNE INJECTION DE SÉRUM DE LAPIN

On sait que le lapin ne réagit pas à la peptone. Une dose de protéose suffisante pour rendre le sang du chien incoagulable est tout à fait inactive quand on l'injecte dans les veines du lapin. On a dit que le lapin est un animal naturellement immun contre la peptone.

Nous avons cherché si, en opérant comme avec le sérum d'un chien immunisé, on ne pouvait conférer à un chien neuf une immunité passive en lui injectant du sérum de lapin.

Nous avons opéré comme il suit :

EXPÉRIENCE X.

A. — *Préparation du sérum de lapin.*

Un lapin pesant 2 kilog. 500 est fixé sur l'appareil à contention. On prépare la carotide et, à l'aide d'une canule stérile, on saigne l'animal à blanc dans un tube de centrifugeuse. On obtient, après centrifugation, un sérum clair.

B. — *Recherche de l'immunité passive.*

Un chien à jeun, pesant 14 kilogrammes, est immobilisé sur la gouttière. On prépare la carotide et la veine pédieuse. On constate, par une saignée préalable à la carotide, que son sang coagule en quinze minutes. On injecte alors dans les veines un mélange composé de 42 cent. cubes de peptone à 10 p. 100 et de 30 cent. cubes de sérum de lapin. Après l'injection, on peut constater l'agitation du chien, la miction d'urine, la baisse de pression, c'est-à-dire tous les symptômes de l'empoisonnement par la peptone. Le sang est incoagulable. Des prises de sang, faites dans le courant des quatre heures qui suivent l'injection, donnent un sang qui reste liquide pendant plus de vingt-quatre heures.

Ainsi donc, le sérum de lapin, animal naturellement immun contre la peptone, ne possède aucune action immunisante quand on l'injecte dans les veines d'un chien.

En résumé, les expériences de ce chapitre viennent confirmer les vues théoriques que nous avons sur l'immunité passive. En effet, étant donné l'absence d'anticorps dans le sérum des animaux immunisés, il nous était impossible de croire à

l'existence d'une immunité passive conférée à un animal neuf par l'injection de sérum d'un animal immunisé.

L'expérience a bien prouvé que le sérum des animaux immunisés ne possède aucune propriété, ni préventive ni curative, et qu'il ne peut en aucun cas servir à l'immunisation des animaux neufs.

Quant au sérum de lapin, il est aussi dénué de pouvoir immunisant que le sérum des chiens immunisés. Quelle est la clef de cette immunité naturelle du lapin? C'est là le sujet que nous allons étudier dans le chapitre suivant en reprenant des expériences déjà connues et en y ajoutant nos recherches personnelles.

## CHAPITRE VII

### ÉTUDE DE L'IMMUNITÉ NATURELLE DU LAPIN

Tous les auteurs qui se sont occupés de l'incoagulabilité du sang provoquée par l'injection de peptone ont vu que, tandis que le chien réagit à cet albuminoïde, le lapin, au contraire, possède une immunité naturelle vis-à-vis de la peptone.

Au cours de nos recherches, nous avons été conduit à reprendre les expériences faites par différents auteurs sur le lapin. Nous rapporterons ici uniquement les expériences dans lesquelles nous avons modifié les conditions normales de l'animal avant de lui injecter la peptone. Elles viendront s'ajouter aux faits déjà vus par les autres auteurs et feront comprendre le mécanisme de l'immunité naturelle du lapin contre la peptone.

Avant tout, nous avons cherché à nous rapprocher le plus possible des conditions expérimentales réalisées dans nos recherches sur le chien. Lorsque nous opérions sur ce dernier animal, nous employions toujours des chiens à jeun. Aussi, nous avons essayé de rechercher si, chez les lapins à jeun, l'immunité naturelle existait toujours.

### IMMUNITÉ NATURELLE CHEZ LES LAPINS A JEUN

#### EXPÉRIENCE XI.

Un lapin, pesant 2 kil. 420, est mis à jeun le 13 novembre 1911, à 6 heures du soir. Le 14 novembre, à 9 heures du matin, il pèse 2 kil. 400. Le 15 novembre, il pèse 2 kil. 280. Le 16 novembre, à 1 heure de l'après-midi, il pèse 2 kil. 170. A 1 heure et demie, on l'attache sur l'appareil et on prépare la

carotide. Une saignée préalable montre que le sang coagule en vingt-quatre minutes. On injecte alors brusquement, dans la veine marginale de l'oreille, 10 cent. cubes d'une solution de peptone de Witte à 10 p. 100 dans l'eau physiologique.

Le lapin ne présente ni agitation ni dyspnée. Un quart d'heure après l'injection, une saignée faite à la carotide montre que le sang coagule en sept minutes. Des prises de sang, faites de demi-heure en demi-heure, pendant quatre heures, donnent toujours un liquide qui coagule en un temps variant entre cinq et sept minutes. Après ce temps, on injecte de nouveau à l'animal 1 gramme de peptone; le sang continue à coaguler normalement.

Ainsi donc, un lapin parfaitement à jeun ne réagit pas à une injection de peptone; son sang reste coagulable. Il paraît donc être immunisé contre les effets nocifs des protéoses.

Les lapins en digestion se comportent de même, ainsi qu'on va le voir dans l'expérience qui suit :

#### IMMUNITÉ NATURELLE CHEZ LES LAPINS EN DIGESTION

##### EXPÉRIENCE XII.

Un lapin, pesant 2 kilogrammes en pleine digestion, est attaché sur l'appareil à contention. On prépare la carotide. Une saignée préalable montre que le sang coagule en dix minutes. On injecte alors brusquement, dans la veine de l'oreille, 10 cent. cubes d'une solution de peptone de Witte à 10 p. 100 dans l'eau physiologique. Le lapin ne présente pas les réactions qui s'observent toujours chez le chien intoxiqué par la peptone, et son sang, pris à la carotide, coagule en cinq minutes. Des saignées, faites de demi-heure en demi-heure, pendant deux heures, donnent un sang aussi facilement coagulable. Le lapin en digestion est donc, comme le lapin à jeun, réfractaire aux effets nocifs de la peptone.

#### IMMUNITÉ NATURELLE CHEZ LES LAPINS PRÉPARÉS

##### PAR DES INJECTIONS D'ALBUMINE D'ŒUF

Nous nous sommes demandé si cette immunité du lapin à la peptone n'était pas due au régime alimentaire de cet animal, tellement différent de celui du chien.

Il était difficile de nourrir un lapin avec des albumines animales; aussi avons-nous tourné la difficulté en injectant périodiquement des lapins avec de l'albumine d'œuf. Cette substance albuminoïde était résorbée par l'organisme du lapin. La preuve de cette résorption était l'apparition, dans le sérum de l'animal

injecté, d'anticorps spécifiques contre le blanc d'œuf. Nous avons ensuite éprouvé ces lapins par des injections de peptone. Voici le protocole d'une de ces expériences :

### EXPÉRIENCE XIII.

Un lapin est immunisé et préparé pendant un mois contre l'albumine d'œuf. Il reçoit tous les six jours une injection intrapéritonéale de 5 cent. cubes d'albumine d'œuf de poule diluée dans le même volume d'eau physiologique. Cinq jours après la quatrième injection, on fait une petite saignée d'essai à la carotide et on constate que le sérum de l'animal possède un pouvoir précipitant très net sur une émulsion claire d'albumine dans l'eau physiologique. L'organisme du lapin a donc fait le travail de l'absorption d'une certaine quantité d'albumine animale.

On fixe ce lapin sur l'appareil à contention ; on prépare une carotide et on injecte brusquement, dans la veine de l'oreille, 10 cent. cubes d'une solution de peptone de Witte à 10 p. 100 dans de l'eau physiologique. Le sang de l'animal, prélevé dans la carotide pendant les deux heures qui suivent l'injection, coagule tout à fait normalement en sept minutes. Le lapin préparé contre l'albumine d'œuf présente, aussi bien que les lapins normaux, une résistance très nette aux effets anticoagulants d'une injection de peptone.

### MÉCANISME DE L'IMMUNITÉ NATURELLE CONTRE LA PEPTONE (1)

L'immunité naturelle du lapin contre la peptone est-elle une véritable immunité ? Autrement dit, le sang du lapin contient-il à l'état normal des anticorps spécifiques capables de neutraliser la substance anticoagulante qui pourrait se former dans le foie après l'injection intraveineuse de peptone ?

Nous avons vu dans le chapitre précédent que le sérum du lapin est incapable de protéger le chien contre le poison anticoagulant fabriqué par le foie du chien. Le sérum du lapin ne peut donc pas conférer au chien une immunité passive. Il ne contient donc pas d'anticorps spécifiques contre la substance anticoagulante.

Si l'on nie la présence d'anticorps spécifiques dans le sérum du lapin, on ne peut expliquer l'indifférence du lapin à la peptone qu'en admettant que le foie de cet animal n'élabore pas de substance anticoagulante sous l'influence d'une injection de peptone.

Le fait peut être facilement démontré en faisant dans le

(1) M<sup>me</sup> POZERSKA, *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1911, t. LXXI, p. 722.

foie d'un lapin une circulation artificielle de sang peptoné. C'est là le sujet de l'expérience suivante.

#### EXPÉRIENCE XIV.

Un lapin pesant 2 kil. 200 est tué par saignée. On prépare la veine porte et la portion thoracique de la veine cave inférieure. On fixe des canules dans ces deux vaisseaux. On fait passer dans le foie de l'animal 200 cent. cubes d'eau physiologique tiède.

On saigne alors un second lapin, on reçoit 70 cent. cubes de son sang dans une éprouvette graduée contenant au préalable 10 cent. cubes d'une solution de peptone de Witte à 5 p. 100 dans l'eau physiologique. On assure un mélange parfait des deux liquides en retournant l'éprouvette sur la paume de la main.

On fait passer, avec la technique employée pour le chien, le liquide sang-peptone dans le foie du premier lapin. On reçoit le sang qui s'écoule de la veine cave dans une série de six verres. On conserve comme témoin 5 cent. cubes de sang peptoné qui a servi à laver le foie.

Dans les six verres, le sang coagule en sept minutes, aussi bien que celui de l'échantillon témoin. On voit donc que le foie du lapin est incapable de produire une substance anticoagulante sous l'effet de la peptone. Il ne peut donc être question de rechercher dans les humeurs du lapin des anticorps contre un antigène anticoagulant, puisque cet antigène n'existe pas chez cet animal.

Puisqu'il n'existe pas d'anticorps spécifique, il n'existe pas d'immunité *proprement dite* du lapin contre la peptone. Si cet animal est indifférent à l'injection de peptone, c'est que son foie est incapable d'élaborer le poison anticoagulant en présence de cette substance albuminoïde.



## QUATRIÈME PARTIE

### MÉCANISME DE LA PSEUDO-IMMUNITÉ DU CHIEN

### CONTRE LA PEPTONE

---

## CHAPITRE VIII

### DÉ L'ÉLABORATION DE LA SUBSTANCE ANTICOAGULANTE PAR LE FOIE DU CHIEN IMMUNISÉ

Dans les chapitres précédents, nous avons vu qu'il n'existait pas, dans le sérum des chiens immunisés contre la peptone de Witte, d'anticorps spécifiques contre le poison anticoagulant formé par le foie sous l'influence des protéoses. On ne peut donc appeler *immunité* cette réaction de défense de l'organisme, puisque l'immunité se définit par la présence des anticorps.

Ce fait vient s'ajouter à ceux déjà nombreux qui faisaient de l'immunité propeptonique une sorte d'immunité toute spéciale. Albertoni, Schmidt-Mulheim, Grosjean avaient constaté dès le début de leurs recherches la brusquerie de l'apparition de l'immunité propeptonique, ainsi que la rapidité de sa disparition.

La fugacité de cette immunité et son apparition immédiate sont contraires à l'évolution de toutes les immunités connues ; celles-ci s'établissent insidieusement et persistent fort longtemps après l'immunisation.

De plus, Nolf a bien démontré que le sang d'un chien immu-

nisé injecté à un chien neuf n'empêche pas ce dernier de réagir à la peptone.

Nous-même avons vu que le sérum d'un animal immunisé n'exerce aucune action préventive ni curative sur un animal neuf.

Tous ces faits montrent bien que l'immunité propeptonique n'est pas une immunité *au sens propre du mot*; elle n'est qu'une *pseudo-immunité*.

Quel est donc le mécanisme de cette pseudo-immunité? Quelle différence essentielle existe-t-il entre l'organisme d'un chien immunisé et celui d'un chien normal?

Nous avons vu qu'au point de vue humoral il n'est guère possible d'expliquer le mécanisme de la pseudo-immunité propeptonique. Restait donc à voir si les organes de l'animal immunisé réagissent différemment à la peptone que ceux de l'animal normal.

Il était tout naturel de s'adresser directement à l'étude de la fonction hépatique puisque tous les auteurs qui s'étaient occupés de cette immunité, avaient remarqué le rôle prépondérant du foie dans l'élaboration de la substance anticoagulante.

Le chien non immunisé élabore, sous l'influence de la peptone, au niveau de sa cellule hépatique, une substance anticoagulante. Une seconde injection de peptone est inactive. Pour expliquer ce fait, on pouvait invoquer deux hypothèses :

1° Après la deuxième injection comme après la première, le foie fabrique de la substance anticoagulante, mais ce poison est neutralisé par des anticorps qui sont apparus dans l'organisme au moment où celui-ci était sous l'influence de la première injection.

2° La deuxième injection de peptone de Witte reste sans effet, parce que la cellule hépatique est modifiée dans son fonctionnement et n'élabore plus, en présence de la peptone, la substance anticoagulante qu'elle pouvait céder au torrent circulatoire lors de la première injection.

La première hypothèse est à rejeter, car, ainsi que nous l'avons démontré, il n'existe pas d'anticorps spécifiques dans le sérum des chiens immunisés.

La seconde hypothèse était donc seule à envisager.

D'autres auteurs, avant nous, avaient étudié la question de l'état fonctionnel du foie dans l'immunité peptonique. D'après Fano, la cellule hépatique serait épuisée par la première injection de peptone et ne pourrait plus au moment de la seconde injection élaborer de substance anticoagulante.

D'après Nolf, au contraire, le foie fabrique de la substance anticoagulante aussi bien au moment de la seconde injection que de la première. Mais cette substance anticoagulante serait neutralisée, pendant le temps de l'immunité propeptonique, par une substance que Nolf appelle fibrinolysine, sécrétée par les leucocytes et les parois vasculaires.

Cette fibrinolysine, dans les expériences de Nolf, paraîtrait donc agir comme un véritable anticorps, puisqu'elle aurait la propriété de neutraliser l'antigène. Cette hypothèse est contraire aux faits que nous avons avancés, puisque nous n'avons jamais pu mettre en évidence dans le sérum des chiens immunisés de substance neutralisant l'antigène anticoagulant.

Nous avons repris la question au point où elle en était et nous avons tout d'abord recherché, dans une série d'expériences dont nous donnons le type un peu plus loin, ce que devient, chez un chien immunisé, l'activité hépatique au point de vue de la formation de la substance anticoagulante.

## EXPÉRIENCE XV.

### A. — *Immunisation du chien.*

Un chien à jeun, pesant 12 kilogrammes, est fixé sur une gouttière. On prépare la carotide et la veine pédieuse. On constate que le sang coagule en douze minutes. On injecte alors lentement dans la veine pédieuse 36 cent. cubes d'une solution de peptone de Witte à 10 p. 100. Les deux premiers centimètres cubes sont injectés par portion de 0 c. c. 5 toutes les dix minutes. Le reste est injecté lentement par portion de 2 cent. cubes. Le temps total de l'injection est de deux heures.

Après la fin de l'injection, le sang coagule en dix minutes. On injecte alors brusquement dans la veine pédieuse 36 cent. cubes d'une solution de peptone à 10 p. 100 et on constate un quart d'heure après que son sang coagule en dix minutes. Le chien est donc immunisé.

### B. — *Lavage du foie du chien immunisé.*

Le chien est alors saigné à blanc; on ouvre rapidement le thorax et l'abdomen, on pose une canule sur la veine porte et sur la portion thoracique

de la veine cave inférieure; après avoir préalablement lié la veine cave inférieure dans l'abdomen.

On fait passer dans le foie 1 litre d'eau physiologique tiède, puis ensuite on y fait circuler un mélange composé de 200 cent. cubes de sang de chien neuf et de 20 cent. cubes d'une solution de peptone de Witte à 5 p. 100.

Le sang qui s'écoule de la veine cave est reçu dans une série de 5 verres. Il se montre dans tous incoagulable après vingt-quatre heures. Un témoin constitué par le sang peptoné qui a servi à laver le foie coagule normalement en dix minutes.

Ainsi donc le foie d'un chien immunisé est capable de produire de la substance anticoagulante sous l'influence de la peptone. Que devient cette substance chez l'animal immunisé?

D'après Nolf, elle serait neutralisée par la fibrinolysine, poison antagoniste qu'on peut considérer comme un véritable anticorps de la substance anticoagulante. Or, nous n'avons jamais pu mettre cet anticorps en évidence par les méthodes généralement employées pour déceler les anticorps.

Lorsqu'on analyse les expériences de Nolf, on voit que la fibrinolysine ne manifeste que fort peu son action dans le torrent circulatoire, puisque dans son expérience de circulation croisée, lorsqu'elle passe avec le sang du chien immunisé dans la circulation du chien neuf, elle est incapable de protéger ce dernier animal contre l'action nocive de la peptone.

En résumé, nous ne pouvons admettre, d'après ce qu'il vient d'être dit, la neutralisation de la substance anticoagulante par des anticorps circulant dans le sang du chien immunisé. Quel mécanisme doit-on alors invoquer pour expliquer le manque de substance anticoagulante dans le torrent circulatoire d'un chien immunisé, lorsqu'on lui injecte de la peptone pour une seconde fois?

Puisque le foie d'un animal immunisé est capable de fabriquer de la substance anticoagulante sous l'influence de la peptone; puisque cette substance anticoagulante ne peut être mise en évidence dans le torrent circulatoire d'un animal immunisé; puisque, d'autre part, nous avons démontré que cette substance anticoagulante n'était pas neutralisée dans le sang de l'animal immunisé, il était indispensable de vérifier si le foie du chien immunisé laisse sortir au niveau de la veine

sus-hépatique la substance anticoagulante qu'il est capable d'élaborer.

Tel est le problème que nous avons cherché à résoudre dans l'expérience qui va suivre (1).

## EXPÉRIENCE XVI.

### A. — *Immunisation du chien.*

Un chien à jeun, pesant 12 kilogrammes, est fixé sur la gouttière. On prépare la veine pédieuse. On injecte lentement 36 cent. cubes d'une solution de peptone de Witte à 10 p. 100. Les 2 premiers cent. cubes sont injectés par fractions de 0,5 cent. cubes toutes les cinq minutes environ. L'injection totale dure deux heures. On lie la veine pédieuse, on enlève la canule et on pose un point de suture.

On détache alors le chien et on lui injecte sous la peau 12 cent. cubes d'une solution de chlorhydrate de morphine à 1 p. 100. L'animal réagit au poison. Une heure après cette injection, on rattache le chien sur la gouttière, on prépare la carotide, la seconde veine pédieuse et on dénude la jugulaire droite. Une saignée faite à la carotide montre que le sang coagule en dix minutes. On injecte alors dans la veine pédieuse 36 cent. cubes de peptone à 10 p. 100. Dix minutes après, on fait une saignée à la carotide et on constate que le sang coagule en dix minutes. Le chien est donc immunisé.

### B. — *Saignée au niveau de la veine sus-hépatique.*

On donne rapidement du chloroforme au chien précédent. On enfonce dans la jugulaire une sonde urétrale n° 12, en caoutchouc durci, mais très flexible, mesurant 40 centimètres de long et fermée à son bout supérieur par un bouchon en caoutchouc. On fait une laparotomie. On introduit la main droite entre le foie et le diaphragme, on saisit entre le pouce et l'index la veine cave inférieure à ce niveau et, de la main gauche, on pousse à l'aveugle la sonde dans la jugulaire droite. La sonde passe de la jugulaire dans la veine cave supérieure, traverse l'oreillette droite et tombe dans la veine cave inférieure. On sent butter son extrémité inférieure contre les doigts de la main droite.

En éclairant convenablement le champ opératoire, on aperçoit la veine sus-hépatique et on la repère définitivement avec les doigts en remontant sur la veine cave jusqu'au point d'intersection de cette veine avec la veine sus-hépatique. Avec la main gauche, on retire alors lentement la sonde de la veine cave; on la sent glisser entre les doigts de la main droite. A un moment donné, son extrémité inférieure fuit sous les doigts. On exerce alors une pression sur la veine cave au niveau de son intersection avec la veine sus-hépatique; on pousse ensuite la sonde de nouveau en avant. Son extrémité inférieure se trouve en ce moment au niveau de la fourche de la veine cave et de la veine sus-hépatique. Rencontrant la veine cave fermée par les

(1) E. POZERSKI et M<sup>me</sup> POZERSKA, *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1914, t. LXXI, p. 723.

doigts, elle ne trouve chemin libre que dans la direction de la veine sus-hépatique; elle s'y engage à fond. On maintient alors avec les doigts la sonde dans la veine sus-hépatique et, de la main gauche, on enlève le bouchon de l'extrémité supérieure de la sonde. Le sang s'écoule goutte à goutte, mais assez rapidement. On le reçoit dans une série de quatre verres, et on constate que, dans tous, il coagule en quinze minutes.

On voit donc que la *substance anticoagulante ne sort pas du foie*.

#### C. — *Vérification de l'activité du foie.*

Ce foie de chien immunisé peut-il encore fabriquer de la substance anticoagulante? Oui, nous l'avons établi antérieurement. Cependant, pour que cette expérience soit complète, nous le vérifions sur ce même animal.

On tue le chien par saignée, on ouvre largement le thorax, on pose une canule sur la veine porte et sur la portion thoracique de la veine cave inférieure. On fait passer dans le foie un litre d'eau physiologique tiède, et on fait circuler dans cet organe un mélange composé de 200 cent. cubes de sang pris à la carotide d'un chien neuf et de 20 cent. cubes d'une solution de peptone à 5 p. 100.

Le liquide qui s'écoule de la veine cave est reçu dans une série de sept verres. On constate que ce sang est encore parfaitement incoagulable après dix-huit heures. Un témoin, contenant 10 cent. cubes du sang peptoné qui a servi au lavage du foie, coagule en dix minutes.

Ainsi donc, nous nous trouvons en face du fait suivant :

*Chez un animal normal, une injection intraveineuse de peptone fait sécréter au foie pendant plusieurs heures de la substance anticoagulante. Chez un animal immunisé, le foie est parfaitement capable d'élaborer de la substance anticoagulante lorsqu'on fait circuler de la peptone dans cet organe isolé. Mais pendant la vie de l'animal immunisé, cette substance anticoagulante ne sort pas de la veine sus-hépatique.*

Dans cette expérience, nous avons pu mettre en évidence, en faisant une circulation artificielle dans le foie de l'animal

immunisé, la preuve de l'existence d'une substance anticoagulante, alors que pendant la vie de l'animal on ne pouvait la déceler dans le torrent circulatoire.

Que se passe-t-il, pendant la vie de l'animal immunisé, lorsque ce dernier reçoit brusquement dans la veine porte une grande quantité de sang peptoné? Nous allons le voir dans l'expérience suivante.

## EXPÉRIENCE XVII.

### A. — *Immunisation du chien.*

Un chien à jeun, pesant 13 kilogrammes, est immobilisé sur une gouttière. On prépare la veine pédieuse. On injecte lentement dans la veine 30 cent. cubes d'une solution de peptone à 10 p. 100. Les deux premiers centimètres cubes sont injectés par portions de 0,5 cent. cubes toutes les cinq minutes. Le reste est injecté lentement en deux heures de temps. On enlève alors la canule de la veine pédieuse après ligature et on fait un point de suture. On détache le chien et on injecte sous la peau 13 cent. cubes d'une solution de chlorhydrate de morphine à 1 p. 100.

Une heure après, on rattache le chien sur l'appareil. On prépare la carotide et la veine pédieuse; on constate que le sang coagule en vingt minutes. On injecte alors brusquement la même dose de peptone que précédemment et on constate que le sang coagule en vingt minutes. Le chien est donc immunisé.

### B. — *Injection du mélange sang-peptone dans la veine porte.*

On chloroformise le chien, on prépare la carotide. On fait une laparotomie et on introduit une canule dans la veine porte seulement. On fait alors passer lentement dans le foie un mélange composé de 200 cent. cubes de sang d'un chien neuf et de 20 cent. cubes d'une solution de peptone à 5 p. 100. Cinq minutes après la fin de l'injection, une saignée faite à la carotide donne un sang qui coagule en une heure. Vingt minutes après la fin de l'injection, le sang pris à la carotide coagule normalement en dix-huit minutes.

Ainsi donc, si, au lieu d'injecter à un chien immunisé de la peptone dans le torrent circulatoire, on injecte lentement la masse totale de cette peptone avec du sang de chien neuf dans le foie, on observe que cet organe, capable de fabriquer la substance anticoagulante, laisse passer celle-ci, pendant un temps très court, dans le torrent circulatoire.

Ce fait est à rapprocher de celui que nous avons observé dans chacune de nos expériences sur les animaux immunisés et qui est le suivant :

Lorsqu'on injecte à un animal immunisé une solution de peptone dans la veine pédieuse, on constate, par une saignée faite à la carotide dix minutes après l'injection, que le sang est normalement coagulable. Mais si, au lieu de faire cette saignée dix minutes après l'injection, on la fait une ou deux minutes après celle-ci, on voit que le sang reçu par la carotide subit un retard de coagulation pouvant aller jusqu'à deux ou trois heures.

Dans ce cas, comme dans celui de l'expérience XVII, on voit que l'immunité contre la peptone n'est jamais parfaite et que, dans les quelques minutes qui suivent l'injection massive de peptone à un chien immunisé, le foie laisse passer encore un peu de substance anticoagulante dans le torrent circulatoire. Nous reviendrons sur la signification de ce fait dans le chapitre suivant.

En résumé : 1° *Le foie d'un chien immunisé est capable d'élaborer de la substance anticoagulante lorsqu'on y fait circuler le mélange sang-peptone (expér. XV).*

2° *Le foie de l'animal immunisé ne déverse plus cette substance anticoagulante dans le torrent circulatoire (expér. XVI), ce qui explique la pseudo-immunité du chien à la peptone.*

3° *Cette pseudo-immunité, provoquée par une sorte de rétention de la substance anticoagulante par le foie immunisé, n'est pas absolue, puisque, dans les premiers instants qui suivent la seconde injection de peptone, on peut déceler la substance anticoagulante dans le sang de l'animal (expér. XVII).*

## CHAPITRE IX

### CONSIDÉRATIONS THÉORIQUES SUR LES FAITS ÉTUDIÉS DANS CE TRAVAIL<sup>1</sup>

De tous les faits qui viennent d'être étudiés dans le présent travail, on peut dégager les grandes lignes suivantes :

Lorsqu'on fait à un chien neuf une injection intraveineuse de peptone, le foie de l'animal élabore sous l'influence de cet albuminoïde une substance anticoagulante qu'il est facile de mettre en évidence.

Lorsque, après quelques heures, on fait une nouvelle saignée à l'animal, on constate que le sang a repris la faculté de se coaguler en quelques minutes.

Une seconde injection intraveineuse de peptone faite à ce moment exerce encore une action très faible sur l'organisme du chien. En effet, une saignée faite une ou deux minutes après une seconde injection montre que le sang coagule bien plus lentement qu'à l'ordinaire. Mais la présence de la substance anticoagulante n'est que fugace et cinq ou dix minutes après la seconde injection le sang coagule normalement. A ce moment, il n'existe pas de substance anticoagulante en circulation.

Nous avons montré qu'il était impossible d'interpréter la disparition du poison anticoagulant en invoquant sa neutralisation par des anticorps spécifiques.

Les expériences de circulation artificielle du mélange sang-peptone dans le foie d'un chien immunisé montrent que cet

organe est capable de produire de la substance anticoagulante, aussi bien que le foie de l'animal non immunisé.

Cependant, ce foie immunisé, capable d'élaborer la substance anticoagulante, ne la déverse pas dans l'organisme du chien, ainsi que nous l'avons démontré, tandis que le foie d'un animal normal abandonne dans le torrent circulatoire sa substance anticoagulante.

Ainsi donc, un chien qui a reçu une injection préalable de peptone présente une pseudo-immunité contre cet albuminoïde, car, après une deuxième injection, son foie, tout en étant capable d'élaborer la substance anticoagulante ne la déverse pas dans la circulation.

Tout autre est le mécanisme de la pseudo-immunité naturelle que présente le lapin à la peptone. En effet, le foie de cet animal est incapable d'élaborer de la substance anticoagulante sous l'influence des protéoses.

Tels sont les faits. Nous avons voulu cependant pousser plus avant notre étude et chercher une explication de ce phénomène de rétention de la substance anticoagulante par le foie du chien immunisé. Deux interprétations se sont présentées à nous.

#### THÉORIE DE L'ARRÊT DU POISON PAR LE FOIE

Sous l'influence d'une première injection de peptone, le foie du chien normal élabore une certaine quantité de substance anticoagulante capable de manifester son action nocive sur le sang. La quantité totale de peptone est rapidement fixée par le foie, ainsi que l'ont vu les nombreux auteurs qui ont constaté la disparition de la peptone du sang.

Si le foie continuait à rejeter dans la circulation générale la substance anticoagulante qu'il est capable de former, l'organisme ne tarderait pas à en subir les fâcheuses conséquences. Aussi, la cellule hépatique emmagasine la substance anticoagulante formée et ne l'abandonne au torrent sanguin qu'au fur et à mesure de son élimination, c'est-à-dire à des doses assez petites pour que cette substance ne soit pas décelable dans le sang de l'animal.

Comment se fait cette élimination ? Nous ne saurions répondre à cette question d'une façon définitive. Dans de nombreux cas, nous avons démontré, d'une façon irréfutable, l'élimination de la substance anticoagulante par l'urine, pendant les heures qui suivent la première injection de peptone à un chien. L'urine recueillie dans ces cas et ajoutée à un sang normal retardait de plusieurs heures sa coagulation, sans présenter la réaction du biuret, ce qui prouve bien qu'elle ne contenait pas de traces appréciables de peptone. Dans d'autres cas, nous avons été moins heureux et nous n'avons pas pu constater l'élimination de la substance anticoagulante par l'urine.

Quel que soit le mécanisme de l'élimination de la substance anticoagulante, le fait certain c'est qu'au moment où celle-ci n'existe plus dans le torrent circulatoire, le foie a acquis la propriété de retenir la substance anticoagulante qu'il peut former lors d'une seconde injection de peptone. Le foie présente donc une barrière infranchissable à la substance anticoagulante qu'il peut encore former. Cette fonction d'arrêt par le foie, qui est presque absolue pendant la vie de l'animal, devient tout à fait relative lorsque l'animal étant tué, on fait passer dans le foie, préalablement lavé, une dose massive du mélange sang-peptone. Cette conception de la pseudo-immunité peptonique ramène cet état de défense de l'organisme à un phénomène physiologique tout à fait général, connu pour des poisons, tels que le phosphore, l'arsenic, le mercure, etc. : *l'arrêt par le foie des poisons qui menacent d'envahir l'organisme.*

#### THÉORIE BASÉE SUR L'AUTOLYSE DE LA CELLULE HÉPATIQUE

Le contenu de la cellule hépatique peut être envisagé comme formé de deux parties : d'une part, le protoplasma capable d'élaborer les substances qui caractérisent l'activité de la cellule ; d'autre part, une certaine quantité de ces substances qui sont déjà sorties de ce protoplasma (glycogène, graisses, pigments, etc.). Une de ces substances, de provenance protoplasmique, est la substance anticoagulante. Cette substance existe certainement en dehors de l'action de la peptone, ainsi que l'ont montré Doyon, Morel et Policard.

On peut donc considérer la cellule hépatique à l'état normal comme contenant dans son protoplasma de la substance anticoagulante en voie de formation, et, en dehors de lui, une substance anticoagulante toute formée. Tel est l'état de la cellule hépatique au moment où on fait à un chien neuf la première injection intraveineuse de peptone.

La peptone, par un mécanisme que nous ignorons, provoquerait la sortie de la substance anticoagulante toute formée contenue dans la cellule hépatique en dehors du protoplasma. Cette substance passe dans le torrent circulatoire à doses massives et manifeste son action anticoagulante. La cellule hépatique se trouve ainsi vidée de substance anticoagulante libre et toute formée.

Le protoplasma de la cellule entre alors en activité pour sécréter de nouveau une quantité d'abord infime de substance anticoagulante. Pendant ce temps, la substance qui circule dans le sang est éliminée petit à petit.

Faisons à ce moment une seconde injection intraveineuse de peptone au chien.

Cette substance albuminoïde, arrivant au niveau de la cellule hépatique, se trouve en présence de cette quantité infime de substance anticoagulante toute formée. Elle en provoque la sortie dans le torrent circulatoire et celle-ci manifeste son action pendant une ou deux minutes seulement. Si l'on fait une saignée à l'animal dix minutes, ou plus, après cette seconde injection, le sang coagule normalement; on en conclut à l'existence d'une immunité contre cette seconde injection de peptone.

Mais, en réalité, il n'existe pas d'immunité *au sens propre du mot*. La peptone de la seconde injection trouve tout simplement une cellule hépatique ne contenant plus de substance anticoagulante toute formée.

Comment expliquer alors que, si à ce moment on sacrifie l'animal et qu'on lave son foie avec de l'eau physiologique, on obtient de la substance anticoagulante en faisant circuler dans cet organe le mélange sang-peptone?

Pour répondre à cette question, il faut invoquer l'autolyse de la cellule hépatique. En effet, les conditions de l'expérience sur le foie de l'animal mort sont toutes différentes de celles qui

sont réalisées chez l'animal vivant. Jacoby a vu qu'il suffit de lier pendant un temps très court la veine porte et l'artère hépatique chez l'animal vivant, pour provoquer dans la cellule hépatique une autolyse telle que, si on enlève les ligatures, les poisons résultant de cet autolyse sont suffisants pour tuer l'animal instantanément.

La cellule hépatique est donc une cellule éminemment fragile. Dès qu'elle est lésée tant soit peu dans son trophisme, elle subit immédiatement une autolyse avancée.

Que se passe-t-il dans l'expérience du lavage du foie d'un animal immunisé? L'animal immunisé est tué par saignée. Cette opération dure plus de dix minutes pour être complète. On procède alors à la laparotomie. Il faut un temps assez long pour enlever le plastron costal, poser les canules sur la veine porte et la veine cave.

On fait ensuite circuler lentement un litre d'eau physiologique tiède dans le foie. Toutes ces opérations réunies prennent une demi-heure environ. Pendant ce temps, on a favorisé de toutes les façons possibles l'autolyse de la cellule hépatique. En effet, on sait, d'une part, que le sang et le sérum sanguin sont des éléments qui empêchent l'autolyse; d'autre part, que la température de 40 degrés la favorise. Or, le lavage du foie par l'eau physiologique tiède enlève la majeure partie du sang de la glande hépatique et laisse la cellule du foie à une température qui favorise l'autolyse.

Nous basant sur l'expérience de tous ceux qui se sont occupés de l'autolyse du foie, nous voyons que la première phase de l'opération de la circulation hépatique artificielle favorise l'autolyse de la cellule. Le mélange sang-peptone que l'on fait passer dans la glande rencontre donc des cellules autolysées, dont le protoplasma s'est déchargé de tout ce qu'il contenait, y compris la substance anticoagulante. La peptone du mélange favorise la sortie de cette substance qui agit immédiatement sur le sang que l'on fait circuler en le rendant incoagulable.

A l'appui de notre thèse, nous pouvons citer de nouveau les expériences de Doyon, Morel et Policard, qui ont obtenu de la substance anticoagulante en faisant passer dans le foie, non plus un mélange de sang-peptone, mais simplement de l'eau

légèrement alcaline, après avoir, toutefois, provoqué l'éclatement de la cellule hépatique par des congélations et des dégels successifs au moyen de l'anhydride carbonique liquide.

Comment expliquer alors en invoquant cette hypothèse que le foie, qui ne cède pas de substance anticoagulante au torrent circulatoire lorsqu'on fait une seconde injection à un animal immunisé, en laisse passer une petite quantité lorsqu'on injecte dans la veine porte le mélange sang-peptone et qu'on recherche la substance anticoagulante dans le sang de la carotide (exp. XVII)? Peut-on invoquer là l'autolyse du foie? Il semble que oui, car avant de faire l'injection dans la veine porte il faut pratiquer une laparotomie et un arrêt momentané de la circulation porte. En effet, pour pratiquer cette opération, il faut poser une ligature sur la veine porte, y introduire une canule et la fixer. Ceci fait, on saigne un chien neuf, on fait le mélange sang-peptone, on l'introduit dans un flacon laveur que l'on met en communication avec la veine porte. Pendant toute la durée de cette manipulation, le foie est privé de la circulation porte. Or, on sait que lorsque la cellule hépatique est privée d'une partie du sang qui la baigne, elle rentre très vite en état d'autolyse.

La légère autolyse qui se produit alors peut expliquer la présence de la substance anticoagulante dans le sang en plus grande quantité qu'après une seconde injection de peptone faite dans les veines d'un chien immunisé, sans qu'on ait préalablement arrêté momentanément sa circulation porte (expér. XVII).

Ainsi donc, nous donnons ici deux interprétations théoriques des faits que nous avons étudiés. Quelle est la plus juste? Il est difficile de se prononcer; peut-être aucune d'elles n'est valable, mais qu'importe; le but de ce travail n'était pas de donner le jour à une théorie nouvelle de l'immunité propeptonique. Nous avons simplement réuni des faits nouveaux qui font sortir cette pseudo-immunité hors du cadre des phénomènes de l'immunité générale et la font rentrer dans celui des processus physiologiques de défense de l'organisme basés sur les modifications fonctionnelles du foie.

## CONCLUSIONS

I. — Lorsqu'on fait à un chien une injection intraveineuse de peptone, l'animal présente des réactions caractéristiques : chute de pression artérielle, agitation suivie de somnolence et incoagulabilité du sang. Le sang redevient normalement coagulable après plusieurs heures.

Une seconde injection, faite au même animal, quand son sang est redevenu normalement coagulable, reste sans effet. On dit que l'animal est immunisé contre la peptone. En réalité, l'organisme du chien devient indifférent non pas à la peptone, mais à la substance anticoagulante élaborée par le foie en présence de la peptone.

Tandis que le chien est très sensible à une première injection de peptone, le lapin, au contraire, est réfractaire à cette substance albuminoïde. Il paraît donc posséder une immunité naturelle contre la peptone.

II. — Le phénomène d'immunité du chien contre la substance anticoagulante formée par le foie, en présence de la peptone, ne peut nullement être rapprochée des phénomènes de l'immunité générale. En effet, ce qui caractérise l'état d'immunité contre un antigène quelconque c'est : 1° un certain temps, plus ou moins long, indispensable à l'immunisation; 2° la persistance de cet état d'immunité pendant un temps assez long; 3° la présence, dans l'organisme immunisé, d'anticorps spécifiques contre cet antigène. Ces anticorps sont de deux sortes : précipitines et lysines; 4° la transmission fréquente de cette immunité à un animal neuf, à la suite d'une

injection à ce dernier d'une plus ou moins grande quantité de sérum de l'animal immunisé.

L'immunité propeptonique est tout à fait différente. En effet : 1° elle s'établit très rapidement; 2° elle disparaît très vite; 3° elle est caractérisée par l'absence complète d'anticorps spécifiques contre le poison anticoagulant fabriqué par le foie sous l'influence de la peptone; 4° le sérum d'un chien immunisé ou le sérum d'un lapin naturellement immun contre la peptone sont incapables de protéger un chien neuf contre les effets anticoagulants des protéoses.

III. — L'immunité propeptonique est provoquée par un tout autre mécanisme.

Au moment d'une première injection de peptone, le foie du chien élabore la substance anticoagulante et la laisse passer dans le torrent circulatoire; d'où incoagulabilité du sang.

Au moment de la seconde injection de peptone, le foie du chien est encore capable d'élaborer la substance anticoagulante, mais celle-ci n'est plus déversée dans le torrent circulatoire; d'où manque d'incoagulabilité du sang, c'est-à-dire immunité apparente. Cependant, après la mort de l'animal immunisé, un lavage du foie par un mélange sang-peptone est capable de mettre en liberté une grande quantité de substance anticoagulante.

IV. — Deux interprétations théoriques peuvent être données de ces faits.

1° Le foie de l'animal immunisé serait capable, sous l'influence de la peptone, d'élaborer de la substance anticoagulante, mais la cellule hépatique emmagasinerait cette dernière, comme elle le fait pour d'autres poisons, tels que le phosphore, le mercure, l'arsenic, etc.;

2° Une première injection de peptone ferait excréter toute la substance anticoagulante libre, contenue dans la cellule hépatique. La seconde injection trouverait une cellule hépatique, vidée de substance anticoagulante toute formée et contenant un protoplasma capable de produire, à la longue seulement, une nouvelle quantité de cette substance. Il est donc tout naturel que cette seconde injection reste sans effet, puisque la cellule

hépatique ne possède pas de substance anticoagulante immédiatement libérable.

Le lavage du foie, après la mort de l'animal immunisé, par le mélange sang-peptone, provoquerait une apparition de substance anticoagulante, parce que ce mélange agirait sur une cellule hépatique autolysée, dont le protoplasma a extériorisé tout son contenu, y compris la substance anticoagulante.

V. — Il existe une différence capitale entre l'immunité acquise du chien et l'immunité naturelle du lapin. Dans le premier cas, le foie du chien immunisé est capable de produire encore de la substance anticoagulante, mais celle-ci n'est pas versée dans le torrent circulatoire. Dans le second cas, le foie du lapin est incapable de produire la substance anticoagulante, même sous l'influence d'une première injection de peptone.

VI. — De tout ce qui précède, on voit que l'immunité propeptonique n'est pas une immunité au sens propre du mot ; ce n'est qu'une pseudo-immunité, dont le mécanisme est une modification fonctionnelle de la cellule hépatique.

*(Travail du Laboratoire de Physiologie de l'Institut Pasteur.)*



# TABLE DES MATIÈRES

|                        | Pages. |
|------------------------|--------|
| INTRODUCTION . . . . . | 5      |

## PREMIÈRE PARTIE

### GÉNÉRALITÉS ET HISTORIQUE

|                                                                                                         |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| CHAPITRE PREMIER. — APERÇU SUCCINCT SUR LE MÉCANISME DE L'ACTION ANTICOAGULANTE DE LA PEPTONE . . . . . | 7  |
| CHAPITRE II. — CONCEPTION ACTUELLE DE L'IMMUNITÉ HUMORALE. . . . .                                      | 11 |
| Phénomène de l'hémolyse. . . . .                                                                        | 11 |
| Phénomène de l'hémoagglutination. . . . .                                                               | 13 |
| Bactériolysines et Bactérioagglutinines. . . . .                                                        | 17 |
| Précipitines et Lysines artificielles contre les substances albuminoïdes non figurées. . . . .          | 18 |
| Anticorps et antigènes. . . . .                                                                         | 20 |
| Immunité active et Immunité passive. . . . .                                                            | 22 |
| CHAPITRE III. — HISTORIQUE DE L'IMMUNITÉ PROPEPTONIQUE. . . . .                                         | 23 |

## DEUXIÈME PARTIE

### LES ANTICORPS DANS L'IMMUNITÉ PROPEPTONIQUE

|                                                                                                                                    |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| CHAPITRE IV. — TECHNIQUE . . . . .                                                                                                 | 33 |
| Préparation du sérum de chien immunisé. . . . .                                                                                    | 33 |
| a) Immunisation par injection brusque.                                                                                             |    |
| b) Immunisation par injection lente.                                                                                               |    |
| Préparation de la substance anticoagulante. . . . .                                                                                | 35 |
| CHAPITRE V. — RECHERCHE DES ANTICORPS SPÉCIFIQUES DANS LE SÉRUM DES ANIMAUX IMMUNISÉS CONTRE LA PEPTONE. . . . .                   | 39 |
| Recherche des précipitines . . . . .                                                                                               | 40 |
| Recherche des lysines . . . . .                                                                                                    | 43 |
| a) Exposé de la méthode de Bordet et Gengou.                                                                                       |    |
| b) Application de la méthode de Bordet et Gengou à la recherche des lysines dans le sérum des animaux immunisés contre la peptone. |    |
| Démonstration cruciale de l'absence d'anticorps dans le sérum immunisé . . . . .                                                   | 54 |

## TROISIÈME PARTIE

### IMMUNITÉ PASSIVE ET IMMUNITÉ NATURELLE CONTRE LA PEPTONE

|                                                                                              | Pages. |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| CHAPITRE VI. — IMMUNITÉ PASSIVE CONTRE LA PROPEPTONE . . . . .                               | 59     |
| Effets de l'injection simultanée de l'antigène et du sérum immu-<br>nisé . . . . .           | 61     |
| Recherche de l'action préventive . . . . .                                                   | 62     |
| Recherche de l'action curative . . . . .                                                     | 63     |
| Recherche de l'immunité passive après une injection de sérum<br>de lapin . . . . .           | 64     |
| CHAPITRE VII. — ETUDE DE L'IMMUNITÉ NATURELLE DU LAPIN . . . . .                             | 66     |
| Immunité naturelle chez les lapins à jeun . . . . .                                          | 66     |
| Immunité naturelle chez les lapins en digestion . . . . .                                    | 67     |
| Immunité naturelle chez les lapins préparés par des injections<br>d'albumine d'œuf . . . . . | 67     |
| Mécanisme de l'immunité naturelle du lapin contre la peptone . .                             | 68     |

## QUATRIÈME PARTIE

### MÉCANISME DE LA PSEUDO-IMMUNITÉ DU CHIEN CONTRE LA PEPTONE

|                                                                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| CHAPITRE VIII. — DE L'ÉLABORATION DE LA SUBSTANCE ANTICOAGULANTE PAR LE<br>FOIE DU CHIEN IMMUNISÉ . . . . . | 71 |
| CHAPITRE IX. — CONSIDÉRATIONS THÉORIQUES SUR LES FAITS ÉTUDIÉS DANS CE<br>TRAVAIL . . . . .                 | 79 |
| Théorie de l'arrêt du poison par le foie . . . . .                                                          | 80 |
| Théorie basée sur l'autolyse de la cellule hépatique . . . . .                                              | 81 |
| CONCLUSIONS . . . . .                                                                                       | 85 |
| TABLE DES MATIÈRES . . . . .                                                                                | 89 |

## DEUXIÈME THÈSE

---

### PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

---

**Botanique.** — LES PIGMENTS DES BACTÉRIES

**Géologie.** — LES MOUVEMENTS TERTIAIRES DANS LA  
MÉDITERRANÉE OCCIDENTALE

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 15 mai 1912.

*Le Doyen de la Faculté des Sciences,*

PAUL APPELL.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

*Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris,*

L. LIARD.









